



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE ou INSTITUT : Sciences

DEPARTEMENT : Biologie

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : M^{lle}. Bentaher Chaima

M^{lle}. Benyahia Merwa

DOMAINE : Science de la Nature et de la Vie

FILIERE : Biologie

OPTION : Microbiologie Environnementale et Infectieuse

Thème

**Etude de l'effet du solvant d'extraction sur l'activité
antibactérienne d'algue marine rouge *Asparagopsis armata***

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
Chaibi Rachid	Maitre de Conférences Classe B	Président
Ziane Mohammed	Maitre de Conférences Classe B	Examineur
Gouzi Hicham	Maitre de Conférences Classe A	Rapporteur
Sifi Ibrahim	Maitre Assistant Classe A	Co-rapporteur

Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier profondément Monsieur **GOUZI Hicham**, professeur à l'université AMAR Thelidji de Laghouat, de nous avoir pris en charge sous sa responsabilité, pour mener à bien ce travail si précieux, sous sa direction et ces orientations fructueuses, son soutien et sa 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 **SIFI Brahim**, encadrant et Professeur à l'université AMAR Thelidji de Laghouat, pour la confiance qui nous a accordée en nous acceptant de diriger ce travail, et pour ses orientations, conseils et suivi.*

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

*Nous tenons bien sûr à remercier Monsieur **Rachid Chaibi**, chef de département, sciences de la nature de la vie, pour tous les efforts fournis, en vue de nous faciliter l'accès au laboratoire de recherche du département, placé sous sa responsabilité, ainsi que pour les sorties de perfectionnement organisées et stages.*

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

Egalement nous sommes pratiquement redevables 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 leur bonne prise en charge, leur patience, aussi pour tous les efforts et sacrifices consentis, en vue de nous assurer une bonne compréhension et assimilation, tout le long de nos études universitaires à ce jour.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*En signe de reconnaissance, à mes chers parents (Ahmed et Messaouda),
pour l'immense bien qu'ils ont fait pour moi, concernant mon bonne
éducation, aussi pour leurs précieux conseils et bénédictions. Recevez
toute ma gratitude et mes profonds sentiments.*

*Que Dieu le tout puissant, soit à vos côtés et vous accorde une meilleure
santé (amen).*

Ames frères : Aissa, mebarek et mohamed

Et sœurs : noussaiba, roumaissa, Hind

*J'espère que ce modeste travail, soit pour eux un bon exemple, pour
mieux faire.*

A ma petite : Rania

Ma grande mère : kheira

Et à toute la famille Bentahar et Benbrika ;

*Je prie notre clément et miséricordieux, de leurs prêter bonheur et
réussite.*

*A mes amis Mebarka, Safa, Fadila , Ftima, Hayat
Noussaiba, Merwa, Nesrine, Hosna, Naima, Fatna, Amal, Ikram, Badreddine, Y
acine, Mustafa , Belkacem, keltoum, Halima avec qui j'ai partagé les beaux
souvenirs , et à tous mes amies sans exception*

Chaima

DEDICACE

C'est avec profonde gratitude et sincères expressions , que je dédie ce modeste effort de fin d'études , en signe de reconnaissance , à mes chers parents , pour leurs amour , leurs patience , leur soutien et leurs encouragements , Que dieux le tout puissant vous bénissent et protègent (amen).

A qui mon dieu tout puissant ma confiée, et ma liée, comme partenaire conjugale, mon cher mari, je tiens à le remercier pour sa compréhension, son aide et encouragement.

Aussi à la mémoire de mon grand père, qui nous a quitté voilà 15 ans environ, pour sa générosité et son esprit plein de sincérité et d'humour. A ma grande mère Kheira, bien aimée pour son affection, bénédiction et ses conseils précieux et utiles.

A mes frères et sœurs, pour leurs compréhensions et soutiens physiques et morales, j'espère que ce modeste travail, soit pour eux un bon exemple, pour mieux faire.

Je prie notre clément et miséricordieux, de leurs prêter bonheur et réussite.

A mes amies et mes camarades d'études, pour leurs bien être et tolérances et surtout pour leurs esprits collectifs d'études et de travail.

Marwa

Sommaire

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des tableaux.....	II
Liste des figures.....	III
Liste des abréviations.....	IV
Introduction.....	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
Chapitre 1.	3
I.1. Généralité sur les algues.....	3
1.1 Définition.....	3
1.2 Structure des algues.....	3
1.2.1 Les algues unicellulaires.....	3
1.2.2 Les algues pluricellulaires.....	3
1.3 La classification des algues.....	4
2. Les algues rouges.....	6
2.1 Généralité.....	6
2.2 Activité biologique des algues rouges.....	6
2.2 Les métabolites bioactifs des algues rouges.....	7
3. <i>Asparagopsis armata</i>.....	7
3.1. Discription.....	7
3.2. Habitat.....	8
3.3. Position systématique.....	9
3.4. Reproduction.....	9
II. Généralité sur les microorganismes.....	11
1. Notion de pouvoir pathogène.....	11
2. Quelques espèces bactériennes.....	12
2.1. <i>Bacillus cereus</i>	12
2.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	13
2.3. <i>Escherichia coli</i>	14
2.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
2.6. <i>Listeria monocytogenes</i>	17
Partie 2. Matériels et méthodes.	
1. Site de la récolte.....	18
2. Matériel biologique.....	19
3. Préparation de l'extrait algal.....	20
4. Tests antibactériens.....	20
5. Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	21
Partie 3. Résultats et discussion	
I. Rendement des extraits bruts.....	23
II. L'activité antibactérienne.....	24
III. Résultat Evaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	30
Partie 4. Conclusion	
I. Conclusion générale.....	32
Références bibliographiques.....	V
Annexe.....	XIV

Liste des tableaux

	Pages
Tableau 01. Origines des souches utilisées dans les différents tests d'activité antibactérienne.	19
Tableau 02. Rendement de différents extraits d' <i>Asparagopsis armata</i> .	23
Tableau 03. Antibiogramme des germes étudiés en présence de l'antibiotique l'ampicilline (diamètre de la zone d'inhibition en mm)	24
Tableau 04. La variation des activités antibactériennes des différents extraits d'algues <i>Asparagopsis armata</i> exprimées en diamètre d'inhibition	25
Tableau 05. CMI (exprimée en mg/ml) des différents extraits (dont les diamètres des zones d'inhibition sont ≥ 15 mm) relatives aux bactéries testées.	31

Liste des figures

	Page
Figure 01 : La distribution des algues selon l'intensité lumineuse	5
Figure 02. La morphologie d' <i>Asparagopsis armata</i> .	7
Figure 03. Photos de l'algue rouge d' <i>Asparagopsis armata</i> .	8
Figure 04. Le cycle de développement d' <i>Asparagopsis armata</i> .	10
Figure 05. Photo de <i>Bacillus cereus</i> au microscope électronique.	12
Figure 06. Photo de <i>Klebsiella pneumoniae</i> au microscope électronique.	13
Figure 07. Photo d' <i>Escherichia coli</i> au microscope électronique.	14
Figure 08. Photo de <i>Staphylococcus aureus</i> au microscope électronique.	15
Figure 09. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au microscope électronique	16
Figure 10. <i>Listeria monocytogenes</i> au microscope électronique.	17
Figure 11. Station de la récolte de l'algue rouge marine <i>Asparagopsis armata</i> (Wilaya de Mostaganem ; Salamandre).	18
Figure 12. Photo de l'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i> (A) Algue fraîche ; (B) Poudre algale.	19
Figure 13. Effet de méthanol pur sur la bactérie <i>Bacillus cereus</i> (A) méthanol pur et (B) avec l'extrait méthanolique.	26
Figure14. Résultats de l'effet de différents volumes d'extrait d'algue marine rouge sur <i>P. aeruginosa</i> .	26
Figure 15. Résultats de l'effet des extraits d' <i>Asparagopsis armata</i> et de différente concentration sur les bactéries par la méthode de puits.	27
Figure 16. Résultats de l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antibacterienne de l'extrait d'algue rouge <i>Asparagopsis armata</i> .	28

Liste des abréviations

°C : Degrés Celsius.

µl : microlitre.

BHIB : Bouillon cœur-cervelle.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

g : gramme.

mg : milligrammes.

H : heures.

MH : Mueller –Hinton.

l : litre.

mm : millimètres.

Rpm : rotation par minute.

Do : densité optique.

nm : nanomètre.

N° : numéro.

S.a : *Staphylococcus aureus*.

B.c : *Bacillus cereus*.

K.p : *Klebsiella pneumoniae*.

E.coli : *Escherichia coli*.

P.a : *Pseudomonas aeruginosa*.

L.m : *Listeria monocytogenes*.

A.armata : *Asparagopsis armata*.

Introduction

Le milieu marin et les organismes qui l'habitent constituent une source infinie des molécules actives à structure chimique originale. Ces molécules sont synthétisées par des voies métaboliques différentes de celles observées en milieu terrestre. Parmi les organismes marins, les algues (Chbani et *al.*, 2011). La présence des composés antibactériens dans les algues marines a été connue depuis les années 70 (Rath et Adhikary, 2007) et l'utilisation des extraits d'algues comme antiseptique a été documentée depuis 1937 (Emerson et Taft, 1945). L'importance des organismes marins comme une source d'agent pharmaceutiques a augmentée durant les années récentes (Blunt et *al.*, 2008 ; Jiao et *al.*, 2011; Lindequist et Schweder, 2001; Mayer et Hamann, 2005; Newman et *al.*, 2003).

Les algues occupent une place importante dans le milieu marin, sont capables de produire des substances, dont l'action constitue dans certains cas un élément de protection contre les prédateurs ou colonisateurs (Younes et *al.*, 2009). Ces métabolites actifs produits par plusieurs espèces de macro et micro-algues marines, montrent des propriétés antibactériennes et anti-inflammatoires, qui sont efficaces dans le domaine thérapeutique (Farid et *al.*, 2012). Les algues marines constituent un énorme réservoir des molécules naturelles potentiellement actives. (Younes et *al.*, 2009). Les activités biologiques des algues sont très diverses : antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, cytotoxiques, antivirales ainsi que d'autres activités (Chbani et *al.*, 2011). Face à l'apparition de formes résistantes de plusieurs bactéries à certains antibiotiques, la recherche de nouvelles molécules actives est devenue une nécessité. (Chbani et *al.*, 2011).

Plusieurs produits naturels comprenant les composés halogénés, comme les haloformes, les méthanes, les cétones, les acétates et les acrylates, sont décrits à partir du genre *Asparagopsis* (McConnell et Fenical, 1977 ; Woolard et *al.*, 1979). Les membres de la famille des *Bonnemaisoniaceae*, où appartiennent les espèces d'*Asparagopsis*, forment des cellules spécialisées (Wolk, 1968 ; Womersley, 1998 ; Young, 1977) typiquement connues comme vésicule ou les glandes cellulaires (Paul et *al.*, 2006).

L'odeur puissante de ces algues est due à une huile essentielle composée principalement de bromoforme avec une faible teneur des autres bromure, chlorure et les iodure contenant le méthane, l'éthane, l'éthanol, acétaldéhydes, acétone, 2-acétoxypropanes, propènes, épxypropanes, acroléine et les buténones (Burreson et *al.*, 1976).

Les espèces d'*Asparagopsis* sont reporté d'avoir des propriétés antifongiques, antibactériennes et antiparasitaires (Bansemir et al., 2006 ; Burreson et al., 1976 ; Genovese et al., 2012 ; Jiao et al., 2011 ; Salvador et al., 2007).

D'après nos connaissances aucune étude n'a été réalisée sur l'effet du solvant d'extraction sur le pouvoir antibactérien de l'extrait de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* d'Algérie. Par conséquent, l'objectif principal de notre travail c'est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait de cette algue préparé à l'aide de quatre solvants organique (acétone, dichlorométhane, méthanol et hexane) vis-à-vis des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) et Gram positif (*Listeria monositogens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) en utilisant la technique de diffusion sur milieu Muller-Hinton.

Ce mémoire a été organisé en différents parties décrivant les étapes successives de cette étude. La première partie concerne un rappel bibliographique aussi précis que possible sur les algues marines, l'algue étudiée et les bactéries pathogènes. Dans la deuxième partie, nous décrivons les procédures expérimentales mises en jeu dans cette étude. La troisième partie est consacrée à une discussion des résultats expérimentaux obtenus. Une récapitulation succincte des résultats ainsi que les perspectives ouvrant la voie à des études ultérieures sur l'algue *Asparagopsis armata*, sont regroupées dans la dernière partie.

Chapitre 1.

Synthèse bibliographique.

I. 1. Généralité sur les algues**1.1. Définition**

Les algues, organismes photosynthétiques, sont conventionnellement définies comme des végétaux peuplant le milieu aquatique, les lieux humides et de nombreux milieux terrestres. Elles sont dépourvues de tige, de racine, de feuille ou de fleur. Leur appareil végétatif relativement simple est appelé « thalle » (Guillaume, 2010). Elles peuvent être libres ou fixés sur un support. Leur taille varie de moins d'un micromètre tel l'algue *Prochlorococcus* (0.5 mètre) à plusieurs dizaines de mètres pour les *Macrocystis* (60 mètres) (Leclerc, 2010). Il est difficile de déterminer le vrai nombre d'espèces vu leur diversité inconnue et leur recensement et leur classification. Dernièrement, le nombre d'espèces recensées est de 139 833 (Guiry, 2015).

1.2. Structure des algues**1.2.1. Les algues unicellulaire**

Ce sont les seuls 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, leur dimension moyenne de quelques micromètres (Davet, 1996). La plupart des algues unicellulaires ou formant de petites colonies appartient à l'un des sept embranchements suivants : Euglénophytes, Dinophytes, Bacillariophytes, Xanthophytes, Chrysophytes, Cryptophytes et Prymnésiophytes (Nabors, 2009).

1.2.2. Les algues pluricellulaire

Trois embranchements phaeophytes, chlorophytes et rhodophytes renferment des algues pluricellulaires présentant un degré de différenciation cellulaire et une organisation des types cellulaires. Alors que de nombreuses espèces unicellulaires sont présentées chez les chlorophytes, les rhodophytes sont très largement pluricellulaires. Quant aux phaeophytes, elles ne sont présentées que par des formes pluricellulaires. La reproduction sexuée est la règle dans ces trois embranchements et de nombreuses espèces ont des cycles de vie complexes impliquant une alternance des générations (Nabors, 2009). Dans de tels cycles de vie, deux formes alternent : une forme diploïde, productrice de spores, appelées *sporophytes*, et une forme haploïde, productrice de gamètes, les gamétophytes (Alayse, 1997).

1.3. La classification des algues

De nombreux critères écologiques, physiologiques ou biochimiques interviennent dans la phylogénie des algues comme les structures cellulaires, le mode de nutrition, l'habitat ou même la nature et la localisation des pigments et glucanes de réserve. Malgré cette importante diversité et complexité structurale, une dizaine d'embranchements¹ (Pérez, 1997) permettent de classer ces végétaux. Différents critères rentrent en considération, à savoir leurs compositions pigmentaires, leurs caractéristiques structurales et leurs modes de reproduction.

L'équipement pigmentaire permet aux algues de capter l'énergie lumineuse de nombreuses longueurs d'onde (Figure 01). Ce processus bioénergétique, la photosynthèse, est à la base de leur autotrophie et leur permet de synthétiser de la matière organique (Pérez, 1997).

La nature et la localisation des pigments permettent de définir plusieurs grands groupes d'algues (Lamouroux, 1813 ; Kützing, 1843). Selon la nature des pigments surnuméraires associés à la chlorophylle, la couleur des plastes des algues permet de distinguer les algues rouges (Rhodophytées), brunes (Chromophytes), vertes (Chlorophytes) et les bleues (Cyanophytes).

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 β - carotène et des oxycarotènes (lutéines, zéaxanthines, violaxanthine) (Bezanger et *al.*, 1990).

Les algues brunes (Phéophycophytes) :

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 rouges (Rhodophytées) :

Les rhodophycophytes sont d'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).

Les algues bleues (Cyanophytes)

Ces algues nommés algues bleues en raison, en particulier, de leur habitat aquatique et de leur coloration bleu-vert. 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).

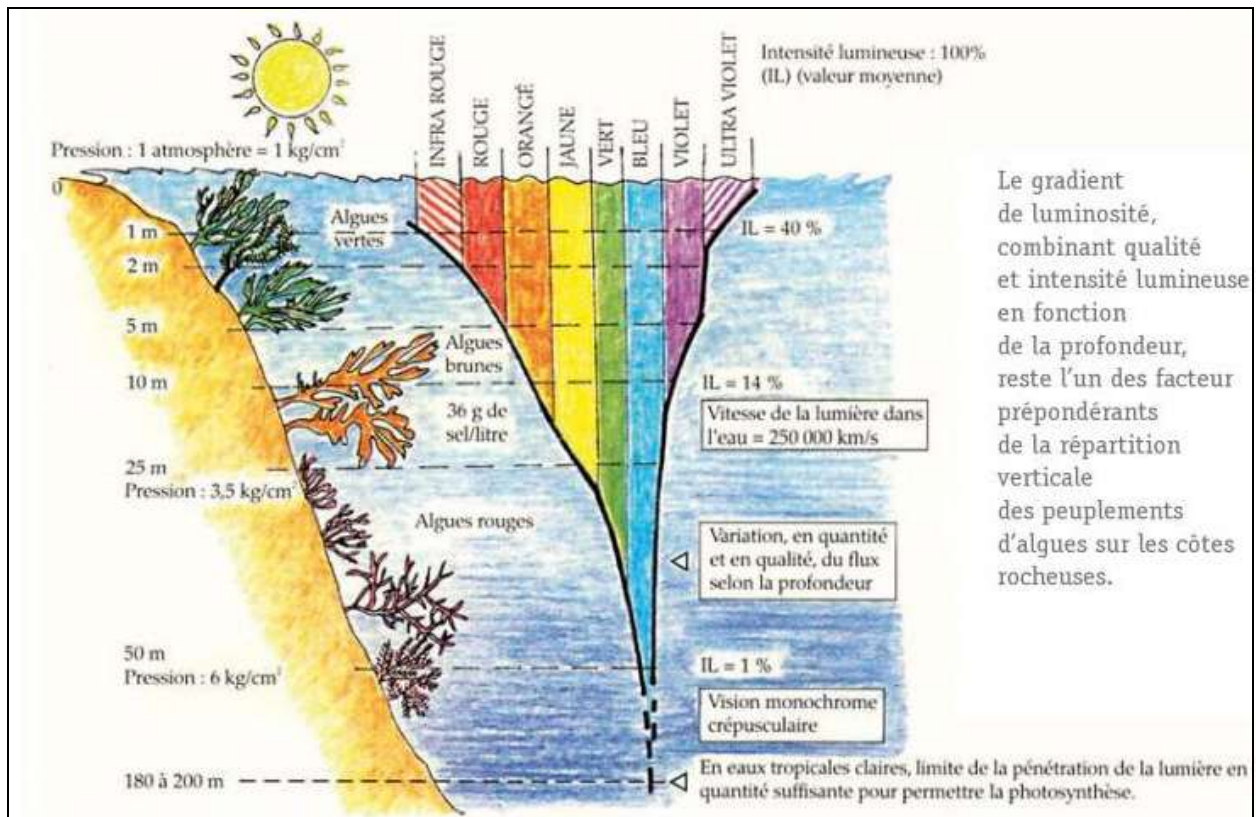


Figure 01 : La distribution des algues selon l’intensité lumineuse (Leclerc, 2010).

2. Les algues rouges**2.1. Généralité**

Les algues rouges constituent l'embranchement des rhodophyta (dans la nouvelle classification, elles deviendraient un règne à part entière dans le domaine eucarya). (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 pigment photosynthétique. peuvent aller d'une taille microscopique aux lames de 2 m (Peter, 2011)

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).

Ces pigments sont particulièrement bien adaptés pour absorber la lumière verte et bleu vert qui pénètre dans les eaux profondes, où les algues rouges sont bien représentées (Peter, 2003). La plupart des algues rouges possèdent un thalle finement découpé et peuvent vivre à de plus grandes profondeurs océanique que les autres algues. Les thalle 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).

2.2. Activité biologique des algues rouges

Les algues sont cesser remis en cause par une combinaison de lumière et des concentration d'oxygène élevées, des microorganismes (virus, les bactéries, les champignons...) pour survivre dans un tel environnement, les algues développent des moyens de lutte efficaces contre ces agresseurs par la production des métabolites bioactifs (Hellio *et al.*, 2004 ; Shanab, 2007 ; Cox *et al.*, 2010 ; Bourgoignon & Stiger-Pouvreau, 2011).

Les algues sont capables de produire une grande variété de métabolites secondaires caractérisés par un large spectre d'activités biologique (des propriétés antioxydantes, des activités antivirales, antifongiques et antibactériennes) (Fenical & Paul, 1984 ; Cox *et al.*, 2010). Il s'est avéré que la production de ces composés de défense chimique est influencées par les variations saisonnières et géographiques (Hellio *et al.* , 2004 ; chiheb *et al.* , 2009).

2.3. Les métabolites bioactifs des algues rouges

Les métabolites bioactifs des algues incluent : les alcaloïdes, les saponines, les carbohydrates, les protéines, les acides aminés, les glycosides, les phytostérols, les composés phénoliques, les teipénoïdes (Elsie et *al.*, 2011), les cétones halogénés, les alcanes, les polysulfures cycliques, les acides gras et l'acide acrylique (Taskin et *al.*, 2007). En effet, Le phylum des Rhodophytes est connu de leur production d'une variété des terpénoïdes chloré et bromé. Ces teipanoïdes halogénés ont montré une activité antifongique forte et une activité antibactérienne et anti tumorale (Tringali, 1997).

3. *Asparagopsis armata* :

3.1. Description

Allure d'*A.sparagus* (asperge). Lat : Armé ; Belles touffes, rose pale, au contour pyramidal, atteignant parfois 30cm de haute, Axes cylindriques a la base, diversement ramifiées ; le thal porte très nombreux ramules, surtout dans sa partie superieure, ce qui lui donne un aspect caractéristique d'*Asparagus*. Mais surtout présence de rameaux épineux, 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 (Cabioc'h et *al.*, 2006).



Figure 02 : La morphologie de l'algue *asparagopsis armata* (Otero et *al.*, 2013).

3.2. Habitat

Asparagopsis armata a été décrite pour la première fois sur la côte ouest australienne (Harvey 1854) et est également présente naturellement en Nouvelle-Zélande (andreakis, 2004 ; Laury, 2014), l'espèce est connue pour avoir été introduite dans le nord-est de l'atlantique et en méditerranée dans les années 1920, probablement depuis l'Australie (Mineur et *al.*, 2010).

A.armata a été pour la première fois dans l'hémisphère nord de l'Algérie en 1923 et est devenu largement distribués en Europe (Pacios, 2011). Cette algue se développe sur les fonds rocheux au niveau de l'étage infralittoral, de la surface jusqu'à 40 m de profondeur (Figure 03).

Asparagopsis armata à des composés organiques halogènes volatiles comme l'iode, chlorés et bromés qui sont des propriétés antifongique et antimicrobienne (Garon-Lardiere, 2004).



Figure 03 : photos de l'algue rouge d'*Asparagopsis armata* (Otero et *al.*, 2013).

3.3. Position systématique

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 Bangiophycées, et les Floridéophycées dont l'organisation végétative (Van den Hoek et *al.*, 1995) est différente, les premières pouvant être qualifiées de « primitives ». *Asparagopsis armata* Harvey (Harvey, 1855), 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*

3.4. Reproduction

Les algues rouges sont connues par la complexité de leur cycle de vie. La majorité des espèces possède trois phases pluricellulaires (Otero et *al.*, 2013). Une phase gamétophytique haploïde et deux phases sporophytiques diploïdes. L'une des phases sporophytiques (tétrasporophytes), produit par moise des spores (tétraspores) qui germent en donnant des gamétophytes mâles ou femelles. Les gamétophytes mâles libèrent des spermatis (gamètes non flagellés), qui seront transportées par les courants jusqu'aux cellules reproductrices femelles portées par les gamétophytes femelles (Figure 04).

Après la fécondation, le zygote se divise par mitose, produisant la seconde phase sporophytique, le carposporophyte, qui reste d'ailleurs fixé sur le gamétophyte femelle, aux dépens duquel il vit en parasite. Le carposporophyte libère des carpospores, qui vont se développer en donnant de nouveaux sporophytes (Nabors, 2009).

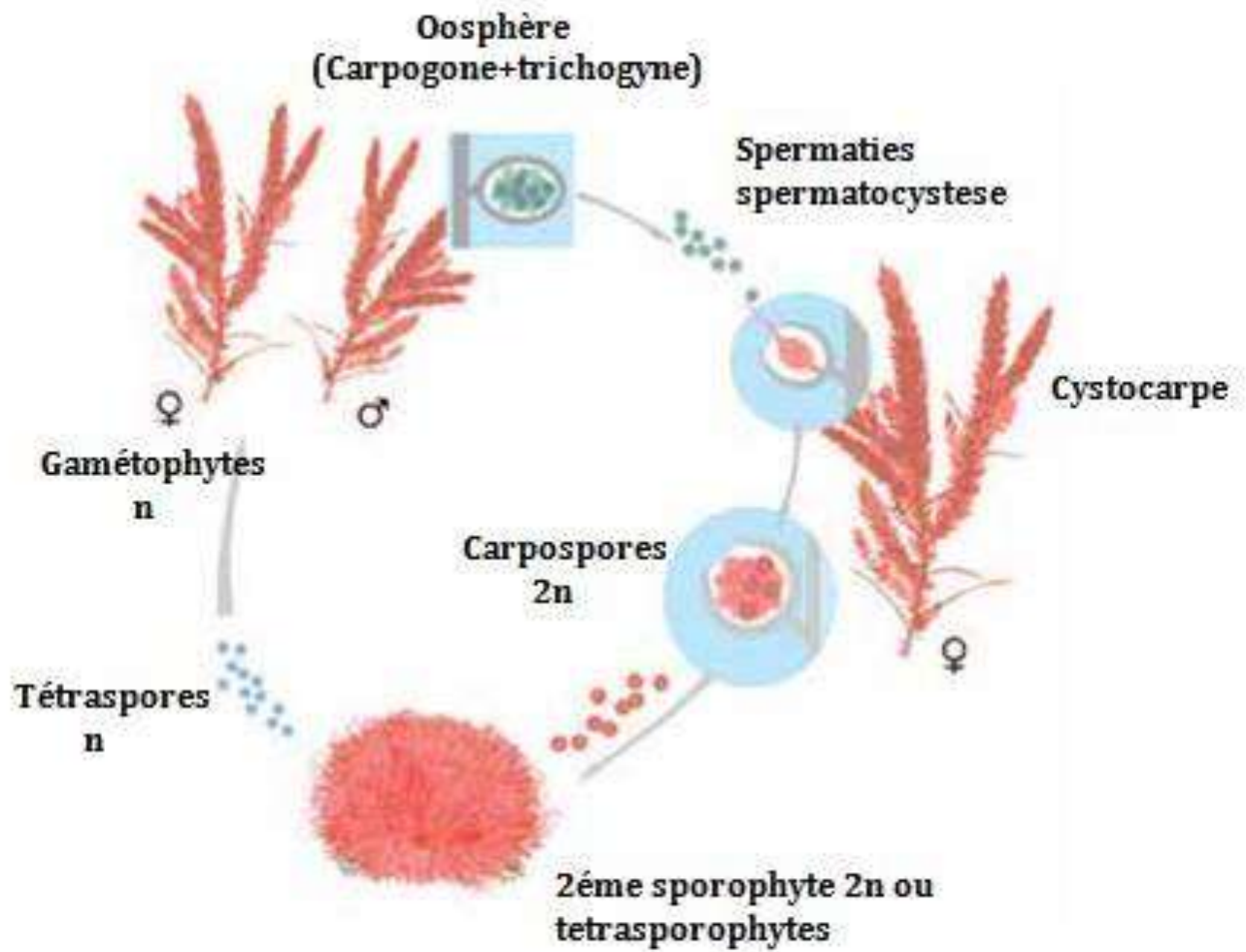


Figure 04 : Le cycle de développement d'*Asparagopsis armata* (Otero et al., 2013).

II. Généralité sur les microorganismes**1. Notion de pouvoir pathogène**

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

Bactéries 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 et les systèmes chélateurs de fer. 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 virulents. Mais pas avec les mêmes doses, quelques bactéries suffisent pour développer une infection, alors que plusieurs milliers sont nécessaires pour causer une infection (Pelmont, 1995).

Bactérie 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 la surface de la peau et des muqueuses de l'homme, et des animaux, suite à une antibiotique ou immunodépression elles vont proliférer (Chouder, 2006).

2. Quelques espèces bactériennes

2.1. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est un bacille, Gram positif, aéro-anaérobie facultatif, mobile. Afin de survivre aux agressions au sein de son environnement, cette bactérie est capable de produire une forme de résistance appelée « spore » avant de retrouver sa forme végétative lorsque les conditions sont stables (germination). (Paredes-Sabja et al., 2011) Les cellules végétatives et les spores de *Bacillus Cereus* sont largement présentes au sein de notre environnement (Stenfors Arnesen et al., 2008).

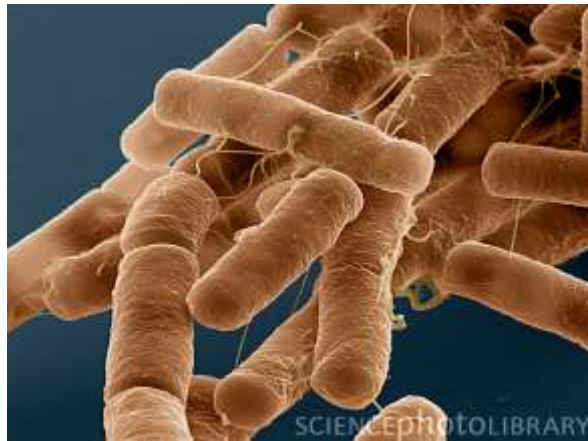


Figure 05 : *Bacillus cereus* au microscope électronique
(<http://www.sciencephoto.com>)

❖ Pouvoir pathogène

En effet, 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 (Stenfors Arnesen et al., 2008). Son omniprésence au sein de notre environnement suscite de nombreux problèmes pour les infections qu'il engendre. En effet, *Bacillus cereus* est un pathogène opportuniste responsable de nombreux types d'infection (Stenfors Arnesen et al., 2008).

2.2. *Klebsiella pneumoniae*

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

Klebsiella pneumoniae est une espèce pathogène opportuniste (Brisse, 2004). Elle est fréquemment rencontrée dans la nature : eaux de surface, du sol, du bois et des végétaux (El Fertas-Aissani et al., 2012). Elle est présente dans le tube digestif de l'homme et des animaux, et elle est commensale des voies respiratoires (Joly et Reynaud, 2002).

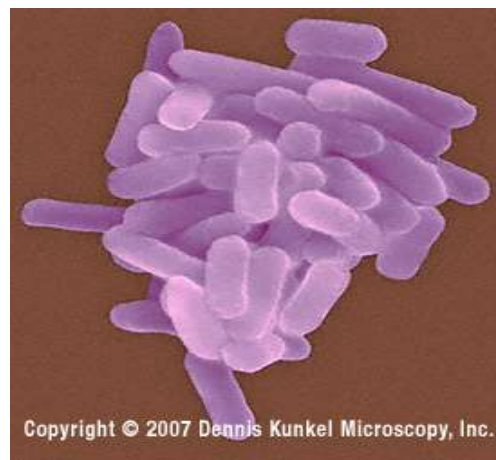


Figure 06 : *Klebsiella pneumoniae* au microscope électronique
(<http://www.denniskunkel.com>)

❖ Pouvoir pathogène

Klebsiella pneumoniae est un agent classique et majeur d'infections nosocomiales en général et néonatales particulièrement (Boukadida et al., 2002). Elle est l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections urinaires (IU) (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 soins intensifs (USI) (Carpentier et al., 2012 ; Joly et Reynaud, 2002). Elles peuvent également causer des bactériémies, d'abcès cérébral et des maladies chroniques comme la méningite (Botelho, 2007). particulièrement de deux types de toxi-infections alimentaires : le syndrome émétique et le syndrome diarrhéique (Stenfors Arnesen et al., 2008).

2.3. *Escherichia coli*

C'est un bacille à coloration de Gram négative, mobile, aérobie, résident normal du tube digestif de l'homme (Delarras, 2007). Cette bactérie est utile parce qu'elle favorise la production de certaines vitamines et dégrade certains aliments qui seraient autrement impossible à digérer (Perry et al., 2004).

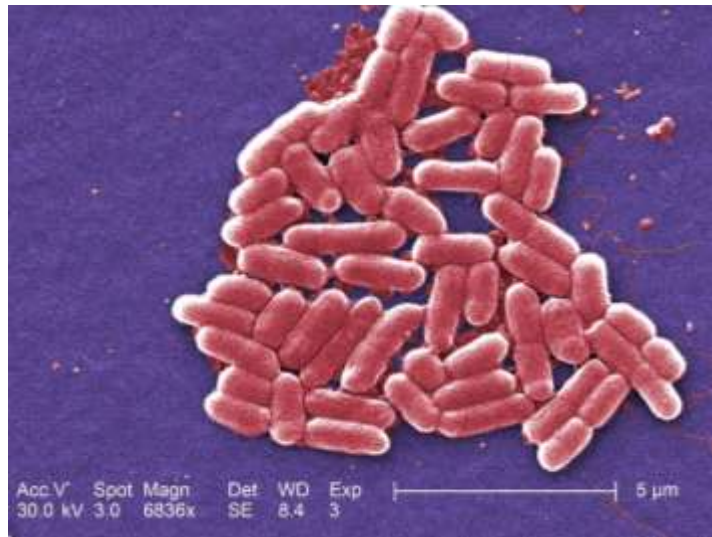


Figure 07 : *Escherichia coli* au microscope électronique
(<http://www.bacteriainphotos.com>)

❖ Pouvoir pathogène

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 d'*Escherichia coli* possèdent 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.

Escherichia 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).

2.4. *Staphylococcus aureus*

Staphylocoques sont des bactéries ubiquitaire. Ce sont des bactéries parasites saprophytes de l'Homme et de l'animal.

Staphylococcus aureus, bactérie à Gram positif, se présente sous l'aspect de coques en petits amas, mesurant de 0,8 à 1 μm 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).

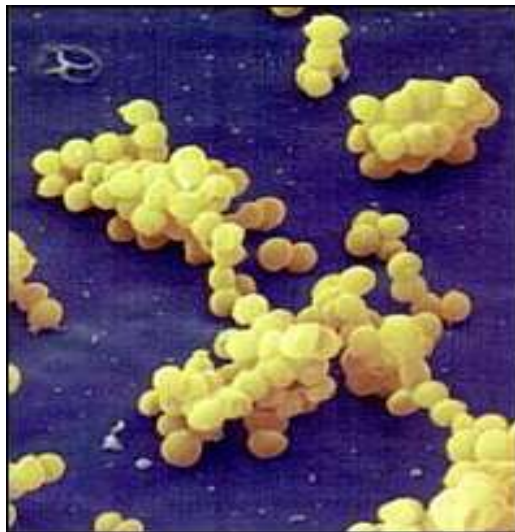


Figure 08 : *staphylococcus aureus* au microscope électronique (Prescott et *al.*, 2010)

❖ Pouvoir pathogène

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus* est la première cause d'infection bactérienne à travers le monde. Les infections à *S. aureus* sont très polymorphes, allant d'atteintes cutanées bénignes comme les furoncles ou les panaris à des pathologies mettant en jeu le pronostic vital comme les septicémies. Les intoxications alimentaires et les infections du système nerveux central (Vincenot et *al.*, 2008).

2.5. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa doit son nom à sa pigmentation, 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 florale. *Pseudomonas aeruginosa* est un bacille à Gram négatif, aérobie strict à flagelle polaire. L'existence de nombreux plasmides gouvernant les caractères phénotypiques les plus divers (résistance aux antibiotiques, aux antiseptiques, modification du taux de croissance, acquisition d'activités cataboliques sur certains substrats) peut compliquer la reconnaissance de cette espèce. (Flandrois et al., 1997)



Figure 09 : *Pseudomonas aeruginosa* au microscope électronique
(<http://www.sciencephoto.com>)

❖ Pouvoir pathogène

P. aeruginosa constitue une cause majeure d'infections nosocomiales diverses chez des personnes fragilisées ou immunodéprimées comme les grands brûlés, les personnes âgées ou les nouveau-nés ainsi que les cancéreux

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 plus grandes causes d'infections opportunistes chez l'homme (Delarras, 2007).

2.6. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes est un bâtonnet bactérien Gram-positif (Prescott et *al.*, 2010). Ubiquiste très largement répandue dans l'environnement, saprophyte, se multiplie à +4°C. Retrouvée dans les aliments d'origine animale et végétale, dans les matières fécales des animaux, voire de l'Homme. (Grosjean et *al.*, 2009)



Figure 10 : *listeria monocytogenes* au microscope électronique
(<http://www.agefotostock.com>)

❖ Pouvoir pathogène

Elle est généralement pathogène et responsable de la listériose. Une infection d'origine alimentaire est responsable des principales maladies gastro-intestinales qui sont habituellement bénigne. Mais qui peut provoquer des maladies sérieuse (méningite. septicité et avortement) chez les individus immunodéprimés et les femmes enceintes. *L. monocytogenes* est une bactérie pathogène intracellulaire qui possède de nombreux facteurs de virulence importants. Le lait, les fromages mous, les légumes ou la viande contaminés ont été désignés comme des sources de la bactérie (Perry et *al.*, 2004).

Chapitre 2.

Matériel et méthodes

1. Site de la récolte

L'algue *Asparagopsis armata* étudiée a été récoltée en mois d'avril 2015 sur la côte de la plage salamandre (position GPS 35°55'04.49 N ; 0°03446.80 E) à 3 km de la wilaya de Mostaganem (Figure 10). Les échantillons d'algue récoltée ont introduits dans des flacons en verre fermé hermétiquement et seront transporté au laboratoire.



Figure 11 : Station de la récolte de l'algue rouge marine *Asparagopsis armata* (Wilaya de Mostaganem ; Salamandre) (Google Maps, 2015) <http://www.google.com/maps>.

2. Matériel biologique

2.1. Matériel végétal



Figure 12 : Photo de l’algue marine rouge *Asparagopsis armata* (Benyahia & Bentaher, 2015). (A) Algue fraîche ; (B) Poudre algale.

2.2. Matériel microbiens

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude proviennent de l’ATCC et de l’IBMC (Tableau 1). Leur croissance est réalisée à 37°C sur gélose Müeller-Hinton Agar (MHA bioMérieux).

Tableau 01 : Origines des souches utilisées dans les différents tests d’activité antibactérienne.

Bactérie	Gram	Code	Origine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538	MNHN
<i>Listeria monocytogenes</i>		ATCC 19111	LAPRONA
<i>Bacillus cereus</i>		ATCC 25921	LAPRONA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853	MNHN
<i>Escherichia coli</i>		ATCC 8739	MNHN
<i>Klebsiella pneumonia</i>		IBMC Strasbourg	MNHN

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

3. Préparation de l'extrait algal

Les échantillons d'algue ont été rincés par l'eau de mer et découpés en petits morceaux, puis séchés à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'algue séchée est broyée à l'aide d'un broyeur en poudre fine. 20 g de cette poudre sont introduits dans des flacons en verre contenant 200 ml de solvants de polarité différentes (méthanol, hexane, dichlorométhane et acétone).

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 des solvants obtenus sont évaporés à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif réglé à 40°C. Les résidus secs sont récupérés dans du méthanol pour une concentration finale de 200 g/l. Les extraits d'algue sont conservés à 4°C, dans des tubes en verre hermétiquement fermés.

Le rendement d'extraction est calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = \left(\frac{M}{M_0} \right) \times 100$$

Avec

R : Rendement exprimé en %

M : Masse en gramme du résidu sec résultant

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter (20 g)

4. Tests antibactériens**4.1 Test de sensibilité à l'ampicilline**

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 l'ampicilline comme antibiotique standard. Le choix a été fait en fonction de la disponibilité.

Le disque de l'ampicilline (10µg) est déposé à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec un inoculum à 0.5 Macfarland des souches à étudier. La lecture fait après 24 heures d'incubation à 37°C.

La sensibilité des bactéries à l'antibiotique est appréciée selon le même protocole qu'avec les extraits d'algue rouge.

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antibactérien 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 Müeller-Hinton Agar qui permet la mise en évidence de l'activité antibactérienne des différents extraits ;
- la méthode des dilutions en milieu liquide qui a pour objectif la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) à partir d'une gamme de concentrations de l'extrait algal dans le milieu de culture.

Préparation des précultures

Les souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétri contenant du milieu Müeller-Hinton Agar. Après 24 heures d'incubation à 37°C, un inoculum pour chaque suspension bactérienne d'une densité optique de 0.1 mesurée à 625 nm a été préparé dans l'eau physiologique stérile.

Technique de diffusion en milieu solide : méthode des puits

L'activité inhibitrice des différents extraits organiques d'*Asparagopsis armata* obtenus est testée par la méthode des puits (antibiographie). 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. Des aliquotes de 25, 35 et 50 µl de chaque extrait sont introduits dans des puits de 6 mm de diamètre, dans la gélose Müeller-Hinton Agar préalablementensemencée par écouvillonnage avec l'inoculum de chaque bactérie à tester. Les diamètres des zones d'inhibition seront alors mesurés à l'aide d'un pied à coulisse. (Janakat et *al.*, 2005).

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

5. Concentration minimale inhibitrice (CMI) : méthode de dilution en milieu liquide

La détermination des CMI est faite en utilisant la méthode de dilution en milieu liquide BHIB puis en milieu gélosé Müeller-Hinton Agar (Bouterfas et *al.*, 2014).

Elle est réalisée seulement pour les extraits organiques d'algue rouge *Asparagopsis armata* les plus actifs constatés lors des tests de sensibilité en milieu solide, ce choix est arbitraire (diamètre de la zone d'inhibition ≥ 15 mm). Ainsi, une gamme de concentrations de l'extrait d'algue allant de 0.4 à 4 mg/ml a été préparée dans des tubes à essai contenant préalablement 10 mL du milieu BHIB stérile.

Chaque tube estensemencé avec 100 μ l d'un inoculum de 24 heures (0.1 DO_{625 nm}). Deux autres séries de tubes, dont l'une, sans extrait, servant de témoin de croissance et l'autre sans germe, de témoin de stérilité, sont préparés. Après une incubation de 24 heures à 37 °C, une série de boîte de pétri contenant de la gélose Mueller-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 comparativement au témoin sans extrait d'algue.

Chapitre 3.

Résultats et discussion

I. Rendement d'extraction

L'extraction est une étape très importante pour l'isolement et l'identification des principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des métabolites secondaire, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur activités biologiques diverses en particulier leur propriétés antibactérienne. Nous avons utilisés des solvants à polarité différentes (acétone, méthanol, dichlorométhane et l'hexane) pour la préparation des extraits à partir de l'algue marine *Asparagopsis Armata* afin de déterminer leur activité antibactérienne. Les rendements d'extraction pour les différents solvants d'algues marines étudiées sont indiqués dans le (Tableau 02).

Tableau 02. Rendement de différents extraits d'*Asparagopsis armata*.

Les extraits d' <i>asparagopsis armata</i>	Rendement %
Hexane	0.26
Méthanol	10.5
Acétone	4.76
Dichlorométhane	0.115

D'après le Tableau (2), on remarque que le méthanol est le meilleur solvant d'extraction. En revanche des rendements faibles ont été obtenus avec le hexane et le dichlorométhane comme solvant d'extraction.

Elnabris *et al.* (2013) ont trouvé un rendement d'extraction faible (1.2%) avec le méthanol comme solvant pour l'algue rouge *Jania rubens*.

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 et de son âge, les facteurs environnementales, la localisation géographique des algues, et les conditions saisonnières (Balboa *et al.*, 2013).

II. L'activité antibactérienne

II.1. Antibiogramme

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques. Le (Tableau 03) reporte les valeurs, en millimètre, des zones d'inhibitions atteintes avec les différentes souches étudiées.

Tableau 03. Antibiogramme des germes étudiés en présence de l'antibiotique l'ampicilline (diamètre de la zone d'inhibition en mm)

Souche bactérienne	Diamètre d'inhibition (mm)(Disque d'ampicilline à 10 µg)
<i>Staphylococcus aureus</i>	13.33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16.00
<i>Escherichia coli</i>	15.75
<i>Klebsiella pneumonia</i>	10.00
<i>Bacillus cereus</i>	18.00
<i>Listeria monocytogenes</i>	16.33

Les résultats montrent que les bactéries testées présentent des sensibilités variables vis-à-vis de l'ampicilline. Les souches bactériennes *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* et *Bacillus cereus* sont extrêmement sensibles à l'ampicilline par rapport aux autres bactéries testées.

II.2. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de puits

L'activité inhibitrice des extraits d'algue marine rouge *Asparagopsis armata* sur la croissance de certaines souches bactériennes pathogènes a été étudiée. Quatre extraits ont été testés. La technique de diffusion de puits a été utilisée pour évaluer l'inhibition des bactéries.

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

D'après le (Tableau 04), on remarque que la nature du solvant d'extraction affecte de manière significative l'activité anti bactérienne de l'extrait d'algue marine rouge *Asparagopsis armata*.

Tous les extraits sont capables d'inhiber la croissance des bactéries avec des degrés d'inhibition variable. Ces résultats témoignent d'une très forte activité bactériostatique des extraits d'algue. Ces résultats sont en accord avec les observations de Salvador *et al.* (2007).

De plus, l'acétone semble c'est avéré le meilleur solvant d'exaction des agents antibactériens, vue que la plus part des bactéries testées ce sont montré 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 est supérieure à 15 mm de diamètre. Cette zone d'inhibition est caractérisée par l'absence de développement d'aucune bactérie et ayant un aspect très clair. La zone d'inhibition observée *in vitro*, utilisée comme indicateur de l'activité antibactérienne, peut variée avec la concentration des métabolites actifs et également avec la variabilité intrinsèque des souches pathogènes testées (Genovese *et al.*, 2012).

Tableau 04 : La variation des activités antibactériennes des différents extraits d'algues *asparagopsis armata* exprimées en diamètre d'inhibition

Les Souches	Acétone	Méthanol	Hexane	Dichloromethane
<i>E.coli</i>	+++	++	++	++
<i>S.aureus</i>	++	++	+++	+++
<i>P. aerogeinosa</i>	+++	++	+++	++
<i>K. pneumonia</i>	+++	+++	++	+++
<i>B. cereus</i>	+++	+++	+++	+++
<i>L.monocytogene</i>	+++	+++	+++	+++

Volume des extraits 35 µl par puits sur le milieu MH. (-) : pas d'inhibition. (+) : diamètre d'inhibition inférieur à 10mm. (++) : Diamètre d'inhibition entre 10 et 15mm. (+++) : Diamètre d'inhibition supérieur à 15mm.

Le méthanol pur, utilisée comme solvant de solubilisation des résidus secs d'algue rouge ne présente aucun effet antibactérien sur les souches étudiées. (Figure 12).

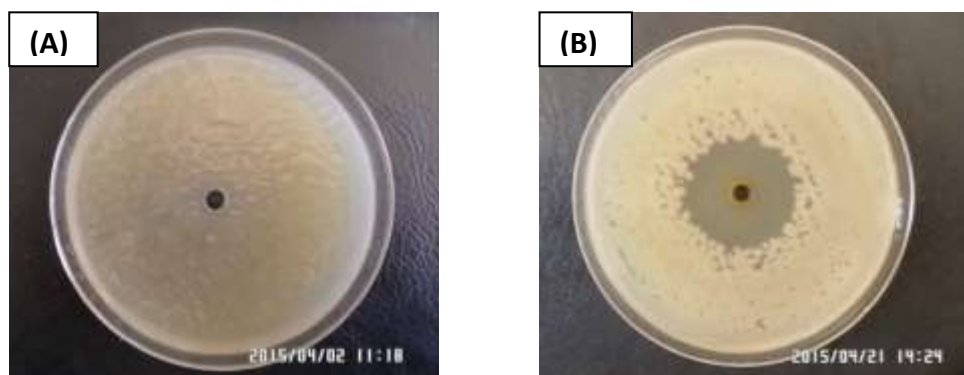


Figure 13 : effet de méthanol pur sur la bactérie *bacillus cereus* (A) méthanol pur et (B) avec l'extrait méthanolique.

L'activité antibactérienne de l'extrait d'algue rouge vis-à-vis de toutes les bactéries étudiées montre une augmentation relative de la zone d'inhibition avec le volume de l'extrait déposé dans le puits (Figure 13).

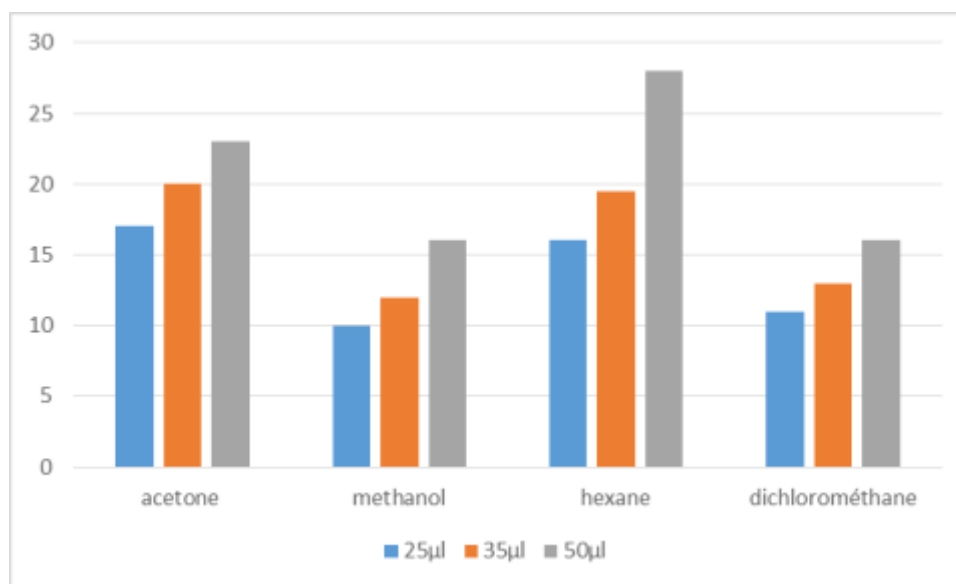


Figure 14 : Résultats de l'effet de différents volumes d'extrait d'algue marine rouge sur *P. aeruginosa*.

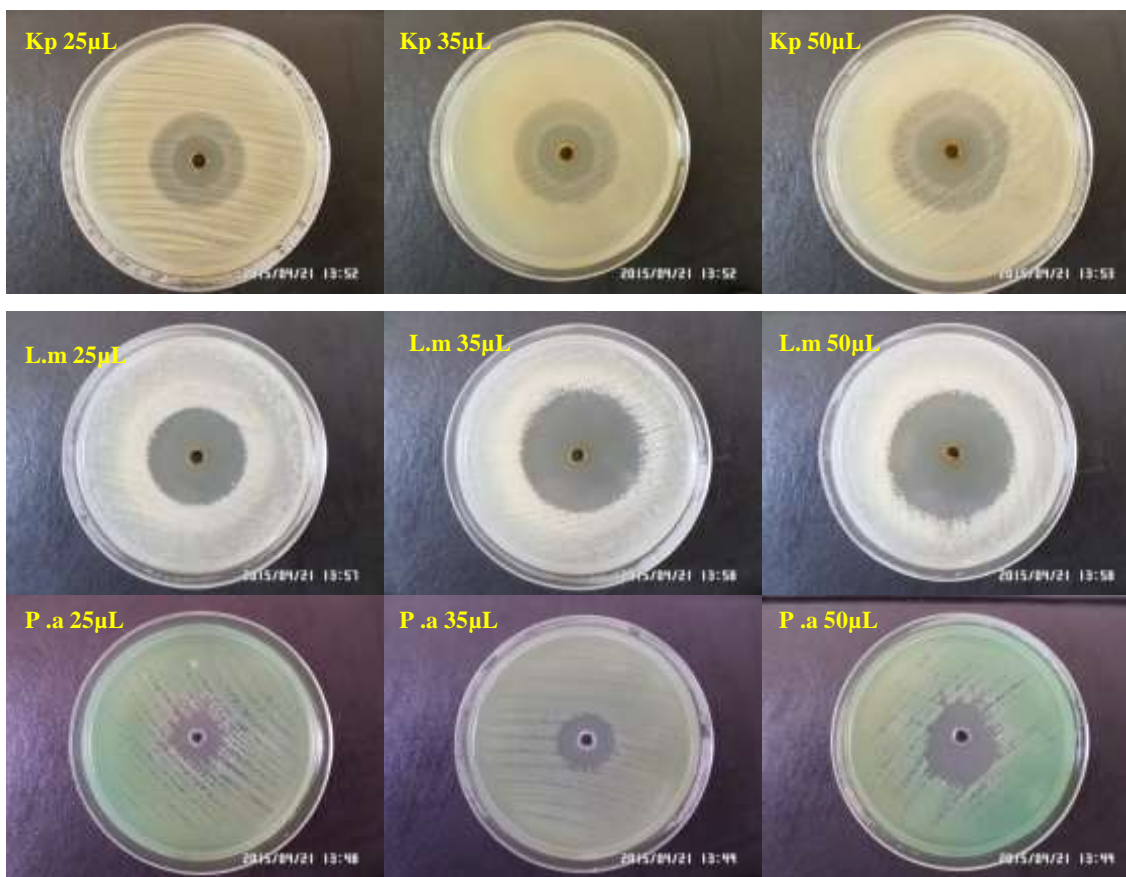


Figure 15 : Résultats de l'effet des extraits d'*Asparagopsis armata* et de différente concentration sur les bactéries par la méthode de puits.

Selon ces résultats, l'augmentation des volumes de l'extrait d'algue s'accompagne d'une augmentation de la zone d'inhibition (Figure 14).

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

D'après les résultats indiqué dans l'histogramme (Figure 15), on remarque que les extraits hexanique et dichlorométhanique ont un effet antibactérien relativement élevé sur les bactéries gram positif par opposition aux bactéries gram négatif qui ce sont montré relativement résistantes. Par ailleurs l'extrait acétonique est plus efficace sur les bactéries gram négatif.

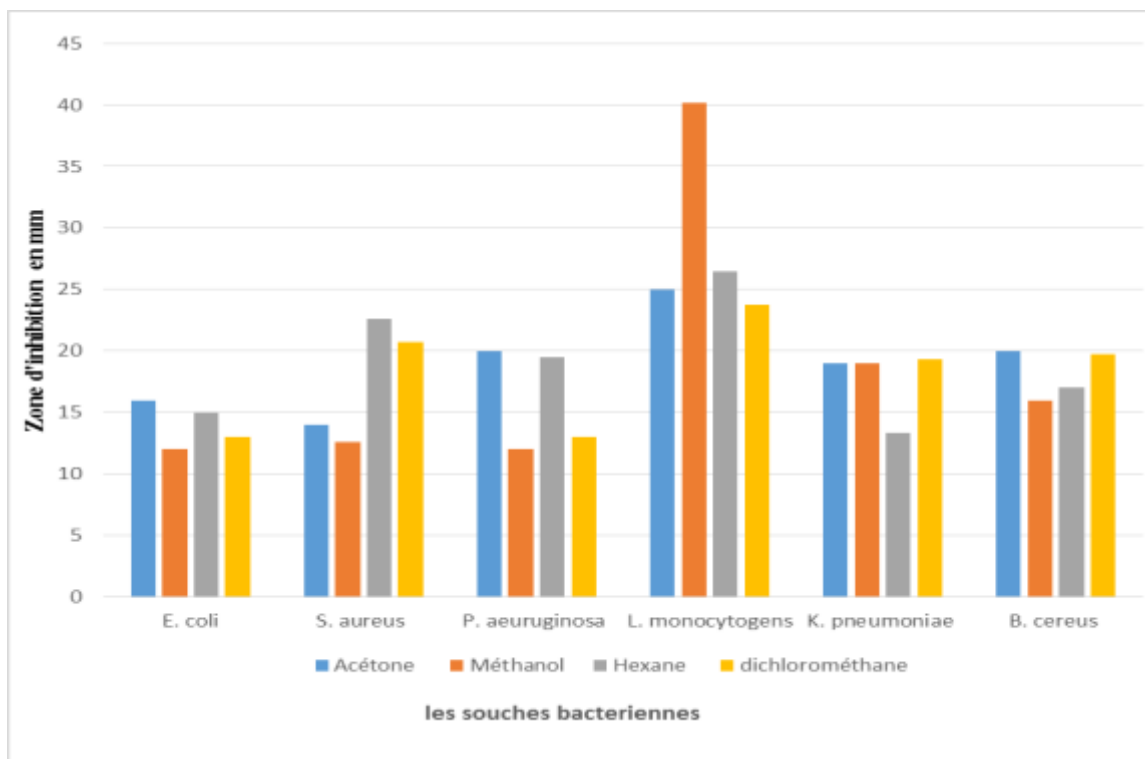


Figure 16 : Résultats de l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antibactérienne de l'extrait d'algue rouge *Asparagopsis armata*.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Salvador *et al.* (2007). Ces auteurs ont trouvé que l'extrait méthanolique de l'espèce *A. armata* a une forte activité sur les bactéries gram positif (*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*) que sur les bactéries gram négatif (*Pseudomonas* et *E. coli*).

Adaikalaraj *et al.* (2012) ont trouvé également que les extraits méthanolique 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.

Alghazeer *et al.* (2013) ont trouvé que les extraits méthanolique et aqueux des algues rouges de la côte ouest de la Libye montrent une activité antibactérienne significative contre les bactéries gram positive par rapport aux bactéries gram négative.

Rao et Parekh (1981) et Vidyavathi et Sridhar (1991) ont reporté aussi que les souches bactériennes Gram-positives sont plus sensibles vis-à-vis des extraits d'algue par rapport aux souches bactériennes Gram-négative.

Plusieurs travaux mettent en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram+ par rapport aux bactéries Gram- aux extraits d'algues marines. Cela peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram- par rapport aux bactéries Gram+. En effet, la sensibilité des bactéries gram positives par rapport aux bactéries Gram négatives pourrait être attribuée aux différences dans les constitutions morphologiques entre ces micro-organismes (structure et la composition de paroi cellulaire).

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 (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).

Nos résultats sont en concordance aussi avec ceux trouvés par d'autres chercheurs (Kandhasamy et Arunchalam, 2008 ; Abirami et *al.*, 2012 ; Adaikalaraj et *al.*, 2012 ; Elnabris et *al.*, 2013 ; Oumaskour et *al.*, 2013).

Les composés chimiques responsables des activités antibiotiques sont largement répandus dans les macroalgues. Les substances d'intérêt sont en particulier les composés halogénés comme les haloformes, les alcanes et alcènes halogénés, les alcools, les aldéhydes, les hydroquinones et cétones (Smit, 2004).

La souche bactérienne *Listeria monocytogenes* c'est avéré la souche la plus sensible vis-à-vis la plus part des extraits d'*Asparagopsis armata*. Par contre *E. Coli* possède une résistance modérée par apport d'extrait d'algue. D'après les travaux Alghazeer et *al.* (2013) sur deux algues rouge *L. obtusa* et *Jania*. Spp, leur l'extraits méthanolique donne des zone d'inhibition inférieur à ceux observés pour l'extrait méthanolique d'*Asparagopsis armata*.

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

L'activité antibactérienne induite par les extraits méthanolique et acétonique, dichlorométhanique et hexanique de l'algue rouge *asparagopsis armata* indique que ces solvants provoquent une meilleure extraction des substances ayant un effet inhibiteur sur les bactéries gram positifs et gram négatifs. 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 bactériennes.

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, la concentration de l'extrait utilisé.

III. Résultat 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 05) les CMI de nos extraits les plus actifs les bactéries étudiées, dont le diamètre d'inhibition est supérieur ou égale à 15 mm obtenu par la méthode de puits en milieu gélosé. Les CMI sont inversement proportionnelles aux diamètres des zones d'inhibitions.

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.

Tableau 05. CMI (exprimée en mg/ml) des différents extraits (dont les diamètres des zones d'inhibition sont ≥ 15 mm) relatives aux bactéries testées.

Espèces	Solvant	CMI (mg/ml)
<i>E. coli</i>	Acetone	4
<i>P.aeruginosa</i>	Acetone	> 4
<i>S. aureus</i>	Héxane	1
<i>K.pneumoniae</i>	Dichloromethane	4
<i>B. cereus</i>	Dichloromethane	4
<i>L. monocytogenes</i>	Methanol	3

Selon la classification proposée par Yakhlef et *al.* (2011), on constate une inhibition modérée avec l'extrait hexanique sur la souche de Staphylocoque, tandis que la CMI des extraits méthanoliques, dichloromethanique et acétonique supérieures à 1.6 mg/ml, donc ils possèdent une faible inhibition par rapport au l'extrait hexanique. Globalement, l'activité antimicrobienne de l'extrait hexanique est plus importante que celle des autre extraits, avec un spectre antimicrobien plus large et à des doses plus faibles.

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.

Conclusion

Les avancées sur les nouvelles technologies ont permis de découvrir un arsenal encore plus important sur les propriétés biologiques des algues. Les algues occupent des habitats très diversifiés sur la surface du globe et surtout elles constituent une extraordinaire diversité. Les océans constituent une source inépuisable de biomasse algale. Pour cela, l'objectif de ce travail était de mettre en évidence l'activité antibactérienne d'une algue rouge marine *Asparagopsis armata* en utilisant différents solvant d'extraction.

Parmi les solvants organiques utilisés, l'hexane donne de bon rendement d'extraction. Tous les extraits exercent des effets bactériostatique et bactéricide sur les souches bactériennes pathogènes pour l'homme. Ces effets varient en fonction de la nature du solvant d'extraction et sa concentration et également de la résistance ou la sensibilité des bactéries.

L'extrait acétonique exerce une activité antibactérienne plus élevée par rapport aux autres extraits. Les extraits hexanique et dichlorométhanique sont plus actifs sur les bactéries Gram positif que sur les bactéries Gram négatif.

Les composés chimiques responsables de ses activités antibiotiques sont largement réponsus dans les algues rouges. Les substances d'intérêt sont en particulier les composés halogénés comme les haloformes, les alcanes et alcènes halogénés, les alcools, les aldéhydes, les hydroquinones et cétones.

Enfin, on peut conclure que l'algue rouge marine *Asparagopsis armata* est une source potentielle de composés antibactériens qui peuvent être utilisés pour le traitement des infections due aux bactéries multirésistantes à la place des antibiotiques classiques.

Afin de compléter cette étude, il est serait intéressant d'isoler et d'identifier les composés responsables de l'activité antibactérienne des extraits d'algue rouge *Asparagopsis aramata* et de déterminer leur mode d'action.

Références bibliographiques

Références

A

- Abirami. P, Gomathinayagam. M, Panneerselvam. R., 2012.** Preliminary study on the antimicrobial activity of *Enicostemma littoral* using different solvents. **Asian pacific journal of tropical medicine, P552-555.**
- 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 tropical Biomedicine, P1077-1080.**
- Alayse. J.P et Nozer'h Y., 1997.** Les algues. Édition JEAN-PUAL GISSEROT, P 288.
- Alghazeer. R, Whida. F, Abdulrhman. E, Gammoudi. F, Azwai. S., 2013.** Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya. **Natural science, Vol.5, N°1, P7-14.**
- Andreakis. N, Procaccini. G, Kooistra. W., 2004.** *Asparagopsis taxiformis* and *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales, Rhodophyta): genetic and morphological identification of Mediterranean populations. **Eur J Phycol, N°39, P273-283.**
- Arunachalam. P, Uthandakalai. R, rajsmail. R., (2014).** Evaluation of antibacterial activity of some selected green seaweed extracts from muttam coastal areas, kanyakumari, Tamil Nadu, India. **Journal of coastal life medicine, N°2, P112-115.**

B

- Ben HajKhalifa.A et Khedher. M., 2010.** Epidémiologie des souches de *Klebsiella* spp. uropathogènes productrices de B-lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien. **Pathologie Biologie, N°60, P1-5.**
- Bézanger. B, Pinkas. M, Totck. M, Trotin.F., 1990.** Les plantes médicinales des régions tempérées. **Edition Maloine, P 12-13.**
- Blunt. J, Copp.R, Hu. W, Munro. M, Northcote. P, Prinsep. M., 2008.** Marine natural products. **Naturals Products Reports, N°25, P 35-94.**
- 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.**
- Botelho. N, Gouriet. F, Lepidi. H, Couvret. A, Amphoux. B, Dessi. P, Raoult. D., 2007.** Chronic nasal infection caused by *Klebsiella rhinoscleromatis* or *Klebsiella ozaenae*: two forgotten infectious diseases. **International Journal of Infectious Diseases, N°11, P423—429.**

Boukadida. J, Salem. N, Hannachi. N, Monastiri. K, Snoussi. N., 2002. Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale néonatale à *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêta-lactamase à spectre étendu. **Arch Pédiatr, N°9, P463-8.**

Bourgounon .N et Pouvreau .V., 2011. Chemodiversity and bioactivity within red and brown macroalgae along the fresh coasts, metropole and overseas departments and territories 58-90p. *In: Kim S-K, Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology. Jhon Wiley & Sons, P608.*

Brisse. S et Duijkeren. E., 2004. Identification and antimicrobial susceptibility of 100 *Klebsiella* animal clinical isolates. *Veterinary Microbiology* 105,307-312.

Burreson. B, Moore. R, Roller. P., 1976. Volatile halogen compounds in the alga *Asparagopsis taxiformis* (Rhodophyta). **J. Agric. Food. Chem, N° 24, P 856–861.**

C

Carpentier. M, Appere. V, Saliou. P, de Tinteniach. A, Floch. H, LeGall. F, M. Cosse .M, El Bouyousfi. M, Baron. R, Boles. J.M, Jourdain. S, Lejeune. B, Nancy. G, Prat. D, Virmaux. M, Wargnier. J et Garlantézec. R., 2012. Outbreak of extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in an intensive care unit (Brest). **Médecine et maladies infectieuses, N° 42, P 501–509.**

Chbani. A, Mawlawi. H, Etahir.S., 2011. Évaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *Padinapavonica*, récoltée sur les côtes libanaises. **Afrique SCIENCE Vol. 7 N°3, P 91 – 96.**

Chiheb. I, Riadi. H, Martinez-Lopez. J, Dominguez .S.J. F, Gomez.V. J. A, Bouziane. H et Kadiri. M., 2009. Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. **African Journal of Biotechnology, Vol 8, N°7, P 1258.1262.**

Chouder. N.,2006. Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionnels sains. **Thèse de magister en médecine vétérinaire. Université Mentouri costantine. Algérie, P 26.28.29.**

Cox. S, Abu-Ghannan. N, Gupta. S., 2010. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. **International food Research Journal, N° 17, P 205-220.**

D

- Davet. P., 1996.** Vie microbienne du sol et production végétale. **INRA Edition, Paris. P 198.**
- Delarras. C., 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. **TEC&DOC. Lavoisier.**
- Devriese. L.A, Vancnnayt. M, Balle. M, Vaneechoutte. M, DeGraf. E, Snouwaert. C, Cllewerck. I, Dawynot. P, Swincs. J, Decostre. A, Haesebrouck. F., 2005.***Staphylococcus pseudodintemedius* SP; acoagulase positive species from animals. **Enternational journa of systematic and evolutionary microbiology, N° 55, P1569-1573.**
- Donadiou. Y et Basire. J., 1985.**Les algues : thérapeutiques naturelles. **Edition Maloine, P 36-40.**

E

- El Fertas-Aissani. R., Messai. Y., Alouache. S., Bakour. R., 2012.**Virulence profiles and antibioticsusceptibility patterns of Klebsiella pneumonia strains isolated from different clinicals pecimens. PATBIO-3048 ; **P8.**
- 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.**
- Elsie. B, Dhanarajan. M, Sudha. P., 2011.** Invitro screening of secondary metabolites and antimicrobial activities of ethanol and acetone extracts from red seaweed *Gelidiumacerosa*. **International Journal of Chemisto, ResearchVol. 2, N°2, P 27-29.**
- Emerson.G.A, Taft. C.H., 1945.** Pharmacologically active agents from the sea. **Texas Reports on Biology and Medicine, N° .3, P302-338.**

F

- Farid. Y, M. Chennaoui, O. Assobhei, S. Etahiri., 2012.** Evaluation de l'effet lieu de récolte des algues marines des côtes atlantiques marocaines sur l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire.*Rev. Microbiol. Ind. San et Environn, Vol. 6, N°1, P : 54-66.*
- Farid.Y, Etahiri. S, Assobhei. O., 2009.**Activité antimicrobienne des algues marines de la lagune d'Oualidia (Maroc) : Criblage et optimisation de la période de la récolte. **Journal of Applied Biosciences, N° 24, P 1543 – 1552**
- Fenical. W et Paul. V.J., 1984.** Antibacterial and cytotoxic terpenoidsfromgreen algae of family Udoteaceae *Algae in medicine and pharmacology. Hydrobiologia, P135-170.*

Food and Agriculture Organization (FAO). 1987. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche : méditerranée et mer noire zone de pêche 37. **CEE ; FAO. P 5- 22.**

G

Garon-Lardiere S. 2004. Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). **Thèse de Doctorat. Université DE Bretagne Occidentale, P 226.**

Gayral, P., 1975. Les algues : morphologie, cytologie, reproduction et écologie. **Edition Doin. P 7, 55.**

Genovese. A, Faggio. C, Gugliandolo. C, Torre. A, Spanò. A, Morabito. M, Maugeri. T.L., 2012. In vitro evaluation of antibacterial activity of *Asparagopsis taxiformis* from the Straits of Messina against pathogens relevant in aquaculture. **Marine Environmental Research, N°73, P 1-6.**

Guillaume. P., 2010. Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes-Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de micro-organismes impliquées dans leur adhésion. **Thèse de doctorat en biochimie. Université de La Rochelle. France, P 28.29.30.32.**

Guiry. M.D et Guiry. G.M., 2015. Algae Base. Worldwide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org> ; searched on 17 April 2015.

Guy. L, Vierling. E., 2007. Microbiologie et toxicologie des aliments : **Hygiène et sécurité alimentaires. 4^{ème} Edition, P224.**

H

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.**

Hellio. C, Mmarechal. J, Véron. B, Bremer. G, Clare.A.S et LeGal. Y., 2004. Seasonal variation of Antifouling activities of Marine algae from the Brittany coast (France). **Marine biotechnology, N° 6, P 67-82.**

J

Janakat. S, Al-Fakhiri. S et Sallal. A., 2005. Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle *Terfazioclaveryi* against *Pseudomonas aeruginosa*. **Phytother. Res. Vol. 26, N°6, P 447-450.**

Fladrous. J., 1997. Bactériologie médicale. presses universitaires de lyon. pp258.

Grosjean. J, Clavé. D, Archambaud. M, Pasquier. C., 2009. Bactériologie et virologie pratique. **1^{er} de boek université, P111.**

Jiao, G, Yu, G, Zhang, J, Ewart, H., 2011. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. **Marine Drugs N°9, P196-223.**

Joly, B, Reynaud, A., 2002. Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic, **P 79-80-83.**

Pacios, J, Dorao, C., 2011. Cryogenics. **Volume 51, Issue 7, P 366–379.**

Cabioc'h, J, J.-Y.Floc'h, A.Le Toquin., C.-F.boudouresque, A.meinesz, M. Verlac., 2006. Guide des algues des mers d'Europe. **Delachaux et Niestlé SA, Paris., P228.**

K

Kandhasamy M and Arunachalam K D., 2008. Evaluation of *in vitro* antibacterial property of seaweeds southeast coast of India African. **Journal of biotechnology vol 7, pp.1958-1961.**

Kützing F.T, 1843. Phycologiageneralisoderanatomie, physiologie und systemkunde der tange. *In: Brockhaus F.A. (Eds.). Germany, Leipzig, F.A. Brockhaus, P 457.*

L

Lamouroux, J.V.F., 1813. Essai sur les genres de la famille des Thalassiophytes non articulées. *In : Dufour, C. (Eds.). France, Paris, Annales du Muséum d'Histoire naturelle, 84 p.*

Lansing M. Prescott, Linda M. Sherwood, Christopher J, Woolverton., 2010. Microbiologie, 3^{ème} édition. **Chapitre 25, P589.**

LauryD. 2014. La diversité des algues rouges du genre *Asparagopsis* en Nouvelle-Calédonie : Approches *in situ* et moléculaire. LauryDijoux. 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.**

Leclerc, V., 2010. Les secrets des algues.1^{ère} Edition Quae, **P13.**

Lindequist, U et Schweder, T., 2001. Marine biotechnology. *In: Rehm, H.J., Reed, G. (Eds.). In: Biotechnology, 10. Wiley-VCH, Weinheim, P 441–484.*

M

Mann, C.M et Markham, J.L., 1998. A new methode for determining the minimum inhibitory concentration of essential oil. **Journal of applied microbiology, N° 84, P538-544.**

Mayer, A.M.S., et Hamann, M.T., 2002. Marine pharmacology in 1999: compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anthelmintic, anti-inflammatory, antiplatelet, antiprotozoal and antiviral activities affecting the cardiovascular, endocrine, immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanism of action. **Comp. Biochem. Physiol. Part. Vol.132, P 315-339.**

Mendes. M, Pereira. R, Sousa Pinto. 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, P 3337-3345.

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, P 2693-2701.

Murray. N., 2009. Biologie Végétale (structure, fonctionnement, écologie et biotechnologie). **Pearson Education France, paris, P382.**

N

Nabors. M., (2009). Biologie végétale structure, fonctionnement et biotechnologies. **Nouveaux nabors, P614.**

Nedjai S., Barguigua A., Djahmi N., Jamali L., Zerouali K., Dekhil M., Timinouni M. 2011. Prevalence and characterization of extended spectrum -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. **Médecine et maladies infectieuses**, N° 42, P 20–29.

Newman. D.J, Cragg. G.M et Snader K.M., 2003. Natural products as source of new drugs over the period 1981–2002. **J. Nat. Prod**, N°66, P1022–1037.

Nichlin. J , Graeme-Cook K, Paget T, Killington R. 2000. L'essentiel en microbiologie. Edition Berti. 1^{er} Eddition .365p.

Noemi. S, Amelia. G.G, Luca. L. et Mariaantonia. R., 2007. Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. **Barcelona (Spain), P101-113.**

O

Oumaskour. K, Boujaber. N, Etahiri. S, et Assobhei. O., 2013. Anti-inflammatory and antimicrobial activities of twenty-three marine red algae from the coast of sidi bouzid (El Jadida-Morocco). **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, N°5, P 145-149.

Ozenda. P., 2000. Les végétaux : organisation et diversité biologique. **Dunod, P65-69.**

Otero.M, Cebrian. E, Francour. P, Galil. B et Savini. D., 2013. Surveillance des espèces envahissantes marines dans les aires marines protégées (AMP) méditerranéennes : guide pratique et stratégique à l'attention des gestionnaires. **UICN, P136.**

P

Paredes-Sabja. D, Setlow. P et Sarker. M.R., 2011. Germination of spores of Bacillales and Clostridiales species: mechanisms and proteins involved. **Trends Microbiol.** N°19, P 85–94.

- Paul. N.A, Nys. R et Steinberg. P.D., 2006.** Chemical defence against bacteria in the red alga *Asparagopsis armata*. **Marine Ecol, N°306, P87-101.**
- Pelmont. J., 1993.** Bactéries et environnement (adaptation physiologique). **Presses Universitaires de Grenoble, P 897.**
- Pérez. R., 1997.** Ces algues qui nous entourent (conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture). **E.IFREMER, P272.**
- Perry. J.J, Staley. J.T et Lory. S., 2004.** Microbiologie. **Dunod, Paris, P891.**
- Peter. H.R, Georges. B.J, Kenneth. A.M. et Jonathan. B.L., 2011.** Biologie. **2^{ème} Edition. P 368.**
- Peter. H.R, Ray. F.E et Susan. E.E., 2003.** Biologie végétale. **6^{ème} Edition, New York. P147.**
- 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, P552-555.**
- Ponce. A.G, Fritz. R, Valle C. et Roura. S.I., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. **Lebensm.-Wiss.u.-Technol, N°36, P 679-684.**
- Pushparaj. A, Rmesh. U et Raubbin. R., 2014.** Evaluation of antibacterial activity of some selected green seaweed extracts from muttam coastal areas, kanyakumari. **Journal of coastal life medicine, Tamil Nadu, India. Vol. 2, N°2, P112-115.**

R

- Rajasulochana. P, Dhamotharan. R, Krishnamoorthy. P et Murugesan S., 2009.** Antibacterial Activity of the Extracts of Marine Red and Brown Algae. **Journal of American Science, Vol. 5, N°3, P20-25.**
- Rao. P et Parekh. K.S., 1981.** Antibacterial activity of Indian seaweeds. **Phykos, N°23, P 216-221.**
- Rath. J et Adhikary. S.P., 2007.** Bioprospecting of marine Algae. In: Gupta, R.K., Pandey, V.D. (Eds.), *Advances in Applied Phycology*. **Daya Publishing House, New Delhi, P. 300.**

S

- Salvador, N., Gómez Garreta, A., Lavelli, L., Ribera, M.A., 2007.** Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. **Scientia Marina N° 71, P 101-113.**
- Shanab. S.M.M., 2007.** Antioxidant and antibiotic Activities of Some Seaweeds (Egyptian Isolates). **International Journal of agriculture & Biology, Vol.9, N°2, P 220-225.**

Smit. A.J., 2004. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. **Journal of Applied Phycology**, N°16, P 245–262.

StenforsArnesen L.P, Fagerlund A, Granum P.E. 2008. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. **FEMS Microbiol. Rev.** N°32, P 579–606.

Struve C., Stahlhut S G., Krogfelt K A et Reisner A.2012. Biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae. **FEMS Immunol Med Microbiol**, N°65, P350–359.

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. Vol 7, P33-777.

T

Taskin. E, Ozturk. M et Kurt. O., 2007. Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). **African Journal of Biotechnology**, Vol.6, N°24, P 2746-2751.

Tortora. J, Funke. B et Case. C., 2003. Introduction à la microbiologie. Edition du RENOUVEAU PEDAGOGIQUE INC. 2^{ème} trimestre, Les domaines des Bacteria et des Archaea, P354.

Tringali. C., 1997. Bioactive metabolites from marine algae ; recent results. **Current Organic Chemistry**, N°1, P 375-394.

Tüney. Ü, Çadirci. B.H, Ünal. D et Sukatar, A., 2006. Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Üzmir, Turkey). **Turkish Journal of Biology**, N° 30, P171-175.

V

Van de Velde. F, Knutsen. S.H, Usov. A.I, Rollema. H.S. et Cerezo A. S., 2002. ¹H AND ¹³C high resolution NMR spectroscopy of carrageenans: application in research and industry. **Trends in food science & Technology**, N°13, P73-92.

Vidyavathi, N., Sridha K.R. 1991. Seasonal and geographical variations in the antimicrobial activity of seaweeds from the Mangalore Coast of India. **Botanica Marina**, N° 34, P 279-284.

Vincenot F, Saleh M, Prevost G., 2008. Les facteurs de virulence de staphylococcus aureus. **Revue Francophone des laboratoires**, N°407, P61-69.

W

Wolk. C.P., 1968. Role of bromine in the formation of the refractile inclusions of the vesicle cells of the Bonnemaisoniaceae (Rhodophyta). **Planta** N°78, P 371-375.

Womersley. H.B.S., 1998. The Marine Benthic Flora of Southern Australia. **Part IIIC. State Herbarium of Southern Australia, Adelaide.**

Y

Yakhlef. G. S, Laroui. L, Hambaba. M.C, Aberkane. A et Ayachi. E., 2011. Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. **Springer-Verlag, France, Vol. 9, P209-218.**

Young. D.N., 1977. Comparative Fine Structure and Histochemistry of Vesiculate Cells in Selected Red Algae. **University of California, Berkeley, P45.46.47.**

Annexe

Composition de différents milieux utilisés

Bouillon cœur-cerveille (BHIB)

Composition

Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de cœur de bœuf.....	5.0g
Peptone.....	10.0g
Glucose.....	2.0g
Chlorure de sodium.....	2.0g
Phosphatase di sodique.....	5g pH= 7.4

Préparation :

37 g par litre d'eau distillé. Stérilisation à l'autoclave à température 120C° pendant 20 min.

Mueller-Hinton

Composition

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

Préparation :

38 g par litre d'eau distillé. Stérilisation à l'autoclave à température 120C° pendant 20 min.

Eau physiologique :

Eau distillé	1000ml
NaCl.....	9g

Résultats de l'activité antibactérienne d'*asparagopsis armata*

Souchesbacteriennes	Volume (µl)	Solvantsd'extraction			
		Acetone	methanol	hexane	dichloromethane
<i>Escherichia coli</i>	25	13	11	13	12
	35	16	12	15	13
	50	18	13	19	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	13	11	20	18
	35	14	12.6	22.6	20.7
	50	15.7	14.8	30	21
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	17	10	16	11
	35	20	12	19.5	13
	50	23	16	28	16
<i>Listeria monocytogenes</i>	25	18	33.7	23	20
	35	25	40.2	26.5	23.75
	50	27	42.4	29	33
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25	16	17.5	9	16
	35	19	19	13.3	19.3
	50	20	22.1	15	24
<i>Bacillus cereus</i>	25	18.5	12.8	13	17
	35	20	16	17	19.7
	50	23.9	18.7	18.6	21.5

Résumé

Ce travail s'intéresse à la valorisation pharmacologique et biologique de l'algue rouge *Asparagopsis armata* de la côte de Mostaganem (Salamandre). Différents extraits de cette algue ont été testés pour leurs pouvoirs antibactériens. Nous avons déterminé l'activité antibactérienne par la méthode de puit de l'extrait dichlorométhanique, acétonique, hexanique et méthanolique sur la croissance souches bactériennes pathogènes Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*) responsables des maladies humaines.

Le méthanol est le meilleur solvant d'extraction. Tous les extraits organiques ont inhibé la croissance des bactéries testées avec des degrés d'inhibition variables. L'extrait acétonique possède le pouvoir antibactérien le plus élevé surtout sur les bactéries Gram négatif. L'extrait méthanolique est efficace seulement sur la bactérie *Listeria monocytogenes*.

Les valeurs des CMI pour l'extrait hexanique et l'extrait méthanolique déterminé par la méthode de microdilution sont respectivement 1 et 3 mg/l.

L'algue *Asparagopsis armata* est une source de substances douées d'activité antibactériennes élevée ayant un caractère lipophile.

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

Abstract

This work focuses on the pharmacological and biological recovery of the red alga *Asparagopsis armata* of Mostaganem coast (Salamander). A various extracts for this alga has been tested for their antibacterial power. We determined that the antibacterial activity by the well method of the dichloromethane, acetone, hexane and methanol extract on growth pathogenic bacterial strains Gram negative (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) and Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*) responsible for human diseases.

Methanol is the best extraction solvent. All organic extracts inhibited the growth of the bacteria tested with varying degrees of inhibition. The acetone extract has the highest antibacterial activity especially against Gram-negative bacteria. The methanol extract is effective only on *Listeria monocytogenes*.

The MIC values for the hexane extract and the methanol extract determined by the microdilution method are respectively 1 and 3 mg / l.

Seaweed *Asparagopsis armata* is a source of substances with high antibacterial activity with a lipophilic character.

Keywords: red seaweed, *Asparagopsis armata*, Antibacterial activity, solvent, extraction, CMI.

ملخص

يركز هذا العمل على الترقية الدوائية والبيولوجية لطحلب الأحمر (*Asparagopsis armata*) من ساحل مستغانم (سلمندر)، تم اختبار مختلف مستخلصات من هذه الطحالب لقدرتها المضادة للبكتيريا. لقد حددنا النشاط المضاد للبكتيريا من مختلف المستخلصات بطريقة النشر بالحفر للمستخلص : الأسيتوني، الهكساني، ثنائي-كلورو-ميثاني و الميثانولي على تكاثر السلالات البكتيرية الممرضة بكتيريا سالبة الغرام (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) و بكتيريا موجبة الغرام (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*) المسؤولة عن الأمراض التي تصيب البشر. الميثانول هو أحسن محلول للاستخلاص. كل المستخلصات العضوية عملت على تثبيط تكاثر البكتيريا المختبرة مع درجات تثبيط متغيرة. المستخلص الأسيتوني لديه قدرة الأكثر مضادة للبكتيريا خاصة على البكتيريا سالبة الغرام. المستخلص الميثانولي لديه فعالية فقط على البكتيريا *Listeria monocytogenes*. قيم CMI لمستخلص الهكساني والمستخلص الميثانولي حددت بطريقة microdilution هي على التوالي 1 و 3 ملغ / لتر. الطحلب *Asparagopsis armata* هو مصدر للمواد التي تهب نشاط مضاد للبكتيريا مرتفع ذات خاصية محبة للدهن.

كلمات المفتاحية: الطحالب الحمراء، النشاط المضاد للبكتيريا، *Asparagopsis armata*، بكتيريا، مذيّب، استخلاص CMI.