

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليج
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 antibactérienne de l'extrait
dichlorométhanique de l'algue marine rouge
*Asparagopsis armata***

Présenté par :

M^{lle}. MOUISSA Fatima

M^{lle}. CHENGUITI Halima

Devant le jury :

Président : LEBOUKH Mourad, Maitre Assistant Classe A

Rapporteur : GOUZI Hicham, Maitre de Conférences Classe A

Examineur : BENACEUR Farouk, Maitre Assistant Classe B

Soutenu publiquement le : 25 Mai 2017.

Remerciement

*Comme nous le faisons, et nous le ferons toujours, nus remercions,
incessamment, le bon Dieu qui nous a accordé courage, patience et volonté
afin d'achever ce modeste travail*

*Nous avons d'abord à exprimer notre sincère remerciement
et notre vive connaissance à **M. GOUZI HICHAM**, pour nous avoir encadré
et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, ses conseils et la
confiance malgré ses nombreuses préoccupations.*

*Mme. Maidi Leila pour leur soutien précieux et aide inestimable.
Nous tenons à présenter nos remerciements Aux personnels du laboratoire de
biologie et d'agronomie de l'Université Amar Telidji de Laghouat
pour leur aide*

*Nous tenons également à exprimer notre remerciement à tous les membres du
jury désignés parmi les enseignants du département de biologie, université de
Laghouat, d'avoir accepté d'examiner notre travail*

Aux tous les professeurs de département de biologie l'université d'Amar Telidji

*Aux personnels du laboratoire du département d'université
Amar Telidji pour leur aide*

*Merci pour tous ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre dans
notre travail, nous les remercions du fond des cœurs*



Dédicaces

Je dédie cette thèse :

À mes chers parents

À la pensée de mes grands parents

À mon frère

À toute ma famille

À mes amis et mes collègues

À tous ceux qui aiment la science

Halima



Dédicaces

Je dédie cette thèse

Aux êtres les plus chers : Mes parents,

*A La mémoire de mon père mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance
pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras.*

*A ma mère, Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa
disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans
les moments les plus difficiles de ma vie.*

*A mes beaux frères surtout Abdelkader et sœurs chaque'un a son nom pour leur
aide, pour son soutien leur générosité et ses encouragements*

À ma collègue le binôme Halima

À tous mes amis et surtout: Amina et Zeltoun

*A ma famille Mouissa , mes collègues et tous ceux et toutes
celles que j'ai involontairement omis de citer et qui n'en
demeurent pas moins chers*

Fatima

تم في هذا العمل تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص ثنائي كلورو ميثان من الطحالب البحرية الحمراء *Asparagopsis Armata* بواسطة تقنيتين من تقنيات الانتشار في وسط صلب مولر هينتون أجار.

المستخلص ثنائي كلورو ميثان يمنع نمو البكتيريا المسببة لأمراض الإنسان سلبية الغرام (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*,) وموجبة الغرام (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*)، بأقطار تثبيط تصل إلى 37 ملم. مستخلص الطحلب كان أكثر فعالية ضد البكتيريا موجبة الغرام.

وتشير قيم التراكيز الأدنى المضادة للبكتيريا CMI بأن *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (0.14 = mg / puit) الأكثر حساسية (مع المستخلص ثنائي كلورو ميثان) بينما *Klebsiella pneumoniae* و *Pseudomonas aeruginosa* هي السلالات البكتيرية الأكثر مقاومة (= mg/puit 0.8 و 2.66 على التوالي).

الطحالب البحرية الحمراء *Asparagopsis armata* يمكن استغلالها كمصدر للعوامل المضادة للبكتيريا التي يمكن استخدامها في مجال المستحضرات الصيدلانية لعلاج الإصابات الإستشفائية .

□ □ □ □ □ مفتاحية: *Asparagopsis Armata*، مستخلص ثنائي كلورو ميثان، مضاد للبكتيريا، التراكيز الأدنى المضادة للبكتيريا CMI.

Résumé

Dans ce travail, l'activité antibactérienne de l'extrait dichlorométahannique de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* a été évaluée par deux techniques de diffusion sur milieu solide Muller-Hinton Agar.

L'extrait dichlorométahannique inhibe la croissance des bactéries pathogènes pour l'homme Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*), et Gram positif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) avec des diamètres d'inhibitions qui peuvent atteindre 37 mm. L'extrait algal est plus actif sur les bactéries à Gram positif.

Les valeurs de CMI indiquent que *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (CMI mg/puit = 0.14) sont sensibles (à l'extrait dichlorométahannique tandis que *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* sont les souches bactériennes les plus résistantes (CMI mg/puit = 0.8 et 2.66, respectivement).

L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* peut être valorisée comme source d'agents antibactériens qui peuvent être utilisés dans le domaine pharmaceutique pour le traitement des infections nosocomiales.

Mots clés : *Asparagopsis armata*, extrait dichlorométahannique, antibactérienne, CMI.

Abstract

In this work, the antibacterial activity of the dichloromethane extract of the red marine alga *Asparagopsis armata* was evaluated by two techniques of diffusion on solid medium Muller-Hinton Agar.

The dichloromethane extract inhibits the growth of pathogenic bacteria in Gram-negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*), and Gram-positive (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) with inhibition diameters up to 37 mm. The algal extract is more active on Gram-positive bacteria.

MIC values indicate that *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* (MIC mg / well = 0.14) are sensitive to dichloromethane extract while *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* are the most resistant bacterial strains (MIC mg / well = 0.8 and 2.66, respectively).

The red marine alga *Asparagopsis armata* can be recovered as a source of antibacterial agents which can be used in the pharmaceutical field for the treatment of nosocomial infections.

Keywords : : *Asparagopsis armata*, dichloromethane extract, antibacterial, CMI.

Liste des figures

	Page
Figure 01. Diversité morphologique des microalgues.	04
Figure 02. Zonation verticale des macroalgues marines.	06
Figure 03. La morphologie de l'algue rouge <i>Asparagopsis</i> .	13
Figure 04. Carte de répartition d' <i>A. armata</i> .	14
Figure 05. Le cycle de développement d' <i>Asparagopsis armata</i> .	15
Figure 06. <i>Escherichia coli</i> au microscope électronique.	17
Figure 07. Coloration de Gram des <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	18
Figure 08. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au microscope électronique.	19
Figure 09. <i>Staphylococcus aureus</i> au microscope électronique.	20
Figure 10. Coloration de Gram des <i>Bacillus subtilis</i> .	21
Figure 11. Station de la récolte de l'algue rouge marine <i>Asparagopsis armata</i> .	22

Liste des tableaux

	Page
Tableau 01. Origines des souches utilisées dans les différents tests d'activité antibactérienne.	23
Tableau 02. Liste des antibiotiques testés sur les bactéries.	26
Tableau 03. Résultats de l'antibiogramme des germes étudiés en présence de différentes ATB (diamètre de la zone d'inhibition en mm).	31
Tableau 04. Résultats de la méthode des puits de l'effet antibactérien de l'extrait dichlorométhanique de l'algue rouge <i>Asparagopsis armata</i> .	34
Tableau 05. Résultats de la méthode des disques de l'effet antibactérien de l'extrait dichlorométhanique de l'algue rouge <i>Asparagopsis armata</i> .	34
Tableau 06. Résultats de la détermination de CMI par la méthode de puits de l'effet de l'extrait dichlorométhanique d' <i>Asparagopsis armata</i> sur les bactéries à Gram+ et à Gram-.	36

Liste des photos

	Page
Photo 01. Photo de l'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i> à l'état frais.	24
Photo 02. Photo de l'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i> .	25
Photo 03. Photo de la macération d'algue marine <i>Asparagopsis armata</i> .	26
Photo 04. Evaporateur rotatif.	26
Photo 05. Les dilutions de l'extrait d'algue <i>Asparagopsis armata</i> .	29
Photo 06. Effet de quelques antibiotiques sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.	31
Photo 07. Résultats de l'effet des extraits d' <i>Asparagopsis armata</i> sur les souches microbiennes par la méthode de diffusion sur puits.	32
Photo 08. Résultats de l'effet des extraits d' <i>Asparagopsis armata</i> sur les souches microbiennes par la méthode de diffusion sur disques.	33
Photo 09. Le résultat de CMI par la méthode de puit de l'extrait d' <i>Asparagopsis armata</i> sur <i>E.coli</i> .	36
Photo 10. Le résultat de CMI par la méthode de puits de l'extrait d' <i>Asparagopsis armata</i> sur <i>P.aeruginosa</i> .	36
Photo 11. Le résultat de CMI par la méthode de puit de l'extrait d' <i>Asparagopsis armata</i> sur <i>K.pneumoniae</i> .	37
Photo 12. Le résultat de CMI par la méthode de puit de l'extrait d' <i>Asparagopsis armata</i> sur <i>S.aureus</i> .	37
Photo 13. Le résultat de CMI par la méthode de puits de l'extrait d' <i>Asparagopsis armata</i> sur <i>B.subtilis</i> .	37

Liste des abréviations

°C: Degrés Celsius.

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.

B.s: *Bacillus subtilis*.

BN: Bouillon nutritive.

CIP: Ciprofloxacine 5 µg.

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

CN: Gentamicine 10 µg.

CNS: Staphylocoques coagulase-négatifs.

CT: Colistine 10 µg.

CTX: Céfataxime 30 µg.

DMSO: Diméthylsulfoxyde.

D.O: Densitomètre.

E.c: *Escherichia coli*.

ERY: Erythromycine.

F: Nitrofurantoïne 300 µg.

FOS: Fosfomycin 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).

MH: Müeller –Hinton.

MHA: Müeller-Hinton Agar.

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.

Sommaire

	Page
Résumé.....	II
Liste des figures.....	IV
Liste des tableaux.....	V
Liste des tableaux.....	VI
Liste des abréviations.....	VII
Introduction.....	1
Synthèse bibliographique.....	3
I. Généralités sur les algues marines.....	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Structure des algues.....	3
I.2.1. Les macroalgues.....	3
I.2.2. Les microalgues.....	4
I.3. Classification.....	5
I.3.1. Les grands groupes des algues marines.....	5
I.4. Conditions de vie des algues.....	6
I.4.1. La lumière, condition essentielle.....	6
I.4.2. Le substrat (ou support).....	7
I.4.3. Les facteurs hydrodynamiques.....	7
I.4.4. La température.....	7
I.4.5. La salinité de l'eau.....	7
I.5. Composition des algues marines.....	8
I.5.1. Polyphénols.....	8
I.5.2. Polysaccharides sulfatés (SPS).....	8
I.5.3. Caroténoïdes.....	8
I.5.4. Peptides.....	9
I.5.5. Acides gras polyinsaturés (AGPI).....	9
I.5.6. Fucostérol.....	10
I.5.7. Sels minéraux.....	10
I.6. Applications des Algues marines.....	10
I.6.1. En alimentation humaine.....	11

I.6.2. En agriculture.....	11
I.6.3. Fourrages.....	11
I.6.4. Le traitement des eaux usées.....	11
I.6.5. Dans le domaine pharmaceutique et médical.....	12
I.7. <i>Asparagopsis armata</i>	12
I.7.1. Description.....	12
I.7.2. Taxonomie.....	13
I.7.3. Répartition de l'espèce.....	14
I.7.4. Reproduction.....	15
II. Généralités sur les bactéries pathogènes étudiées.....	16
II.1. Notion de pouvoir pathogène.....	16
II.2. Les bactéries à Gram négatif.....	16
II.2.1. <i>Escherichia coli</i>	16
II.2.2. <i>Klebsiella pneumonies</i>	18
II.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
II.3. Les bactéries à Gram positif.....	20
II.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	20
II.3.2. <i>Bacillus subtilis</i>	20
Matériel et méthodes	22
I. Matériels.....	22
I.1. Zone d'échantillonnage.....	22
I.2. Souches microbiennes.....	23
I.3. Choix des milieux de culture.....	24
II. Méthodes.....	24
II.1. Préparation des extraits d'algues.....	24
II.2. Calcul du rendement d'extraction.....	26
II.3 Test de sensibilité aux antibiotiques.....	26
II.4. Tests antibactériennes.....	27
II.5. Préparation de l'inoculum.....	27
II.5.1. Préparation de pré-culture.....	27
II.5.2. Préparation de la suspension bactérienne.....	27
II.6. Technique de diffusion en milieu solide.....	27
II.6.1. Méthode des puits.....	27

II.6.2. Méthode des disques.....	28
II.7. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	28
Résultats et discussion.....	29
I. Rendement des extraits bruts.....	29
II. L'activité antibactérienne.....	29
II.1. Résultats de tests de sensibilité aux antibiotiques.....	29
II.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion.....	32
Conclusion.....	38
Références bibliographiques.....	39
Annexe	

Introduction

Les océans et les mers représentent près des trois-quarts de la surface du globe. La vie sur Terre est apparue dans le milieu marin il y a environ 3,8 milliards d'années alors que les premières espèces terrestres remontent, quant à elles, à 400 millions d'années. Cette différence se traduit aujourd'hui par une plus grande diversité des espèces dans le milieu marin. Néanmoins, sur près de 220 000 substances naturelles répertoriées, seules 10 % sont d'origine marine. Ceci peut s'expliquer par le fait que les organismes marins ont été beaucoup moins étudiés que leurs analogues terrestres, et ce principalement à cause du manque de connaissance du milieu marin et des difficultés liées à la récolte des échantillons **(Ramade, 2009)**.

Parmi les organismes marins, les algues qui 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 naturels. Les algues marines constituent un énorme réservoir de molécules naturelles potentiellement actives **(Rajeev et Xu, 2004 ; Blunt et al. 2006; 2008; 2009)**, des études ont permis d'isoler et d'identifier un très grand nombre de molécules nouvelles de grande originalité structurale et dont beaucoup d'entre elles ont une activité biologique intéressante **(Bhakuni et Silva 1974; Hodgson, 1984 ; Ballesteros et al., 1992, Arisawa, 1997)**.

Les activités décrites et associées aux algues marines sont très diverses : antimicrobiennes **(Reichelt et al., 1984 ; Etahiri et al., 2007)** anti-malariales **(Wright et al., 1997)** antioxydantes **(Etahiri et al., 1984 ; Zubia et al., 2007)**, anti-inflammatoire **(Etahiri et al., 2004)**, cytotoxique **(Ktari et Guyot, 1999)**, antivirales **(Cacamesse et al., 1980)** ainsi que d'autres activités.

Etant donné le large éventail d'activités associées aux algues marines particulièrement antimicrobiennes, et face à l'apparition de formes résistantes de plusieurs bactéries à certains antibiotiques, la recherche de nouvelles molécules actives est devenue une nécessité. D'après nos connaissances, la biomasse algale des côtes marines Algérienne n'a pas encore été exploitée comme source potentielle d'agent antimicrobien.

Récemment, les travaux de **Mostefoui et Abdellaoui, (2015)** et **Benyahia et Bentaher, (2015)** montrent que les extraits organiques de l'algue *Asparagopsis* récolté de la région de Mostaganem ont une activité antifongique et antibactérienne.

Pour cela, l'objectif du présent travail est de mettre en évidence *in vitro* les propriétés antibactériennes de l'extrait dichlorométhanolique de cette algue marine sur des souches pathogènes pour l'homme.

La première partie de ce document est consacrée à une synthèse bibliographique sur les algues marines et leurs applications, ainsi qu'un aperçu sur les microorganismes étudiées dans ce travail. Dans la deuxième partie, nous décrirons 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 la dernière partie.

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les algues marines

Les algues sont des végétaux beaucoup moins connus que les plantes terrestres, et beaucoup plus difficiles à appréhender. Elles occupent en grande partie les milieux aquatiques, en particulier marins et sous-marins et constituent un ensemble d'organismes extrêmement divers qu'il est fort difficile de présenter de manière univoque **(Julie, 2011)**.

Elles sont très variées. Malgré les différentes couleurs, bleu, rouge, brun ou vert avec lesquelles, elles peuvent être perçues, elles possèdent toute de la chlorophylle (pigment vert) **(Cabioc'h J et al., 1992)**. Elles peuvent être libres ou fixées sur un support. Leurs tailles varient du micromètre à plusieurs dizaines de mètres pour certaines algues. « Près de 30000 espèces d'algues ont été répertoriées jusqu'ici » **(Leclerc V et Floch J.-Y, 2010)**.

Les algues marines synthétisent une grande variété de métabolites secondaires chimiquement actifs, qui sont utilisées pour la défense contre les autres organismes prédateurs ou colonisateurs. Ces métabolites actifs produits par plusieurs espèces de macro et microalgues marines, montrent des propriétés antibactérienne et anti inflammatoire, qui sont efficaces dans le domaine thérapeutique **(Paul et Puglisi 2004, Kubanek et al., 2003, Steinberg et de Nys 2002, Engel et al., 2002; Ren et al., 2001, Nagle et Paul 1999, Bakus et al., 1986)**.

I.1. Définition

Les algues sont des organismes aquatiques primitifs qui vivent naturellement dans nos plans d'eau, elles sont capables de produire leur propre matière organique par photosynthèse **(Rivard-Sirois, 2005)**. Dépourvues de racines, de tiges et de feuilles, mais possédant de la chlorophylle ainsi que d'autres pigments accessoires pour réaliser la photosynthèse productrice d'oxygène. La plupart des algues se développent en milieu aquatique d'eau douce, saline ou saumâtre, sur des rochers humides, ou sur un sol mouillé mais certaines sont terrestres et sont capables de se développer sur le sol ou sur le tronc des arbres **(Michel, 2000)**. Elles ont des formes et des dimensions très variables. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur, mais elles ont toutes des caractères communs. Elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal **(Ramade, 2009)**.

I.2. La structure des algues

I.2.1. Les macroalgues

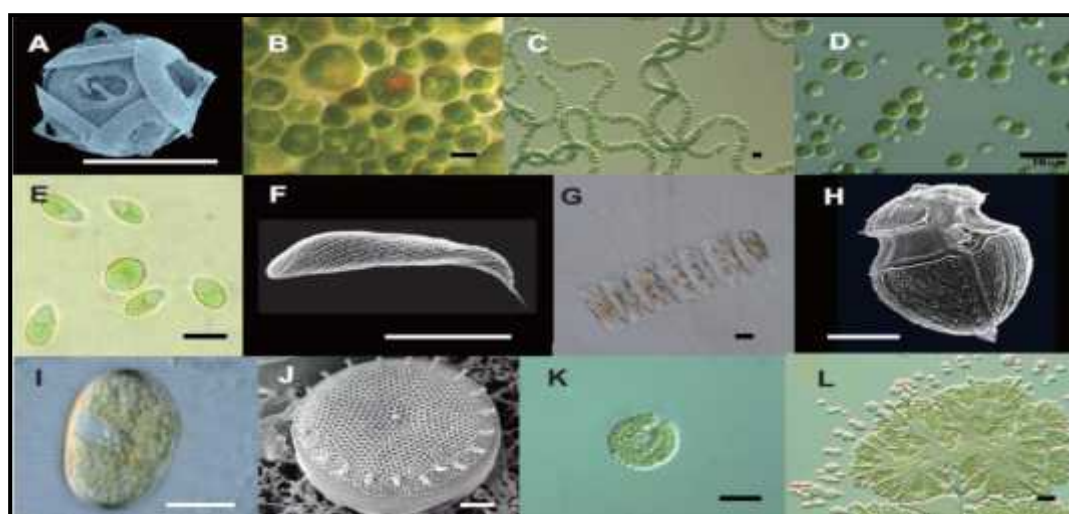
Les macroalgues sont des algues multicellulaires de taille proche du centimètre et qui croissent le plus souvent dans des bassins naturels d'eau douce ou d'eau salée **(Wen et**

Johnson, 2009). Ces organismes sont nécessaires aux écosystèmes côtiers en termes de composition, fonction et productivité (**Taylor, 1957; Taylor, 1960; Littler et Littler, 2000; Dawes et Mathiesen, 2008**). On distingue principalement trois groupes de macroalgues différenciés selon leur pigmentation : rouge, verte et marron.

I.2.2. Les microalgues

Les microalgues sont des microorganismes aquatiques unicellulaires eucaryotes de forme ellipsoïde ou ronde, elles se trouvent dans tous les habitats aquatiques, marins ou d'eaux douces. Elles sont souvent connues sous la dénomination de « phytoplancton » (**Sumi, 2009**).

Les microalgues sont considérées comme des algues unicellulaires, qui ont une taille de l'ordre du micromètre. Elles se développent principalement en suspension dans des solutions aqueuses (**Wen et Johnson, 2009**). Elles sont aptes à coloniser tous types de milieux, notamment eaux salées, douces, saumâtres et même dans des eaux usées grâce à leurs capacités d'adaptation et de survie. Elles peuvent également se développer sur des surfaces rigides, telles que les troncs d'arbre, les structures immergées ou les murs (**Becerra Celis, 2009**).



A : Gephyrocapsa

E : Dunaliella tertiolecta

J : Bacillariophyceae

B : Haematococcus lacustris

F : Chaetoceros calcitrans

K : Raphidophyceae

C : Spirulina platensis

H : Dinophysis acuminata

L : Botryococcus

D : Chlorella vulgaris

I : Alexandrium

La longueur du trait dans chaque figure est égale à 10µm.

Figure 01. Diversité morphologique des microalgues (**Sumi, 2009**).

I.3. Classification

La classification des algues se fait selon des caractéristiques spécifiques telles que les composantes de la paroi cellulaire, les pigments présents (la couleur), le cycle de vie et le type de composés utilisés pour l'entreposage de la nourriture. En effet, les algues sont un groupe d'organismes très diversifiés qui varient en forme et en grosseur : unicellulaire, multicellulaire, coloniale, filamenteuse, amas de protoplaste (**Memory, 2006**).

I.3.1 Les grands groupes des algues marines

En général, les algues regroupent quatre groupes qui sont différenciées par rapport à la couleur. Chaque groupe contient des classes, et chaque classe contient des centaines d'espèces (**Garon-Lardiere, 2004**).

Les algues vertes (Chlorophycées)

Les chlorophycées comportent environ 10000 espèces. Elles sont de formes très variées, uni-ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, auxquelles sont associés des carotènes et des xanthophylles. La photosynthèse permet la formation d'amidon, comme pour les plantes supérieures, la plupart des algues vertes vivent en eau douce ou en milieux marins, mais certaines espèces peuvent également se développer sur terre. Elles jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale (**Garon-Lardiere, 2004**).

Les algues brunes (Phéophycées)

La couleur brune de ces algues résulte de la dominance du pigment xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le bêta-carotène).

Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens. La grande majorité des algues brunes sont marines (**Garon-Lardiere, 2004**).

Les algues rouges (Rhodophycées)

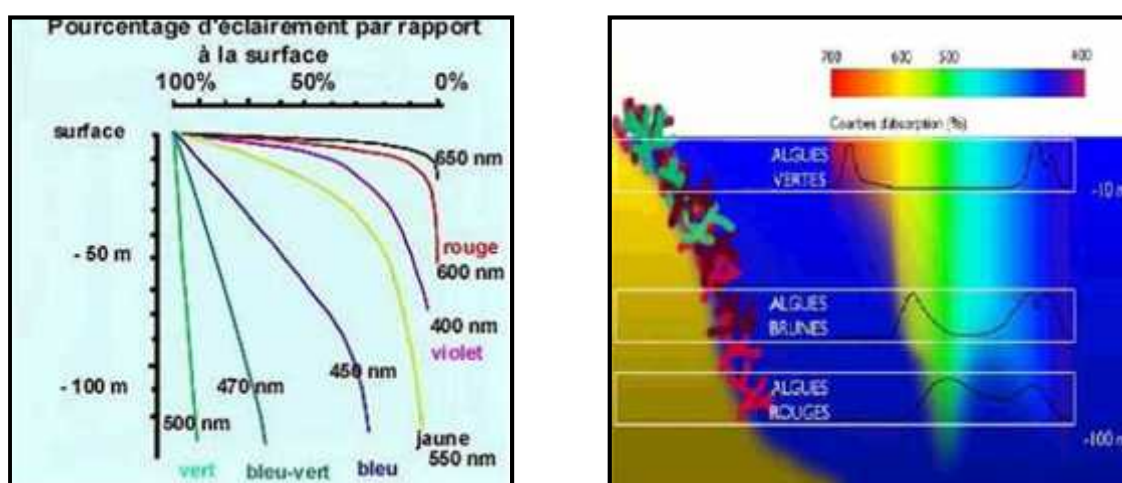
L'étude des algues rouges est difficile, au grand nombre de leurs représentant répond la diversité des types d'organisation, des modes de vie et surtout des cycles de reproduction qui sont plus compliqués que dans les autres classes. Les rhodophytes ou algues rouges forment un groupe très diversifié. Ces algues doivent leur couleur à la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles.

La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, mais il existe quelques formes unicellulaires et quelques unes vivent également en eau douce. Les algues rouges sont divisées en deux groupes: celui des Bangiophycées (qualifiées de primitives) et celui des

Floridéophycées (plus complexes). Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe (Garon-Lardiere, 2004).

🌈 Les Cyanobactéries

Les cyanobactéries ou les algues bleues sont constituées des colonies de taille, de forme et de couleur très variables. Comme les algues rouges, elles possèdent des pigments surnuméraires bleus (Phycocyanines) et rouges (Phycoérythrine) qui masquent le chlorophylle a. En dépit de leur nom ancien d'algues bleues, elles sont rarement bleues mais plus souvent rouges, vertes avec des reflets bleutés, violets, bruns, jaunes ou orangés. La plupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse voire gluante en raison des mucilages qu'elles sécrètent (Garon-Lardiere, 2004).



I.4. Conditions de vie des algues

I.4.1. La lumière, condition essentielle

La lumière intervient sur l'algue de diverses façons: par l'intensité lumineuse, par la nature des radiations et par la durée des périodes de luminosité et d'obscurité. La quantité et la qualité de l'algue dépend de la pénétration de la lumière dans les masses d'eau. Elle peut favoriser ou freiner son développement.

Les algues détiennent des pigments différents selon les espèces, qui interviennent dans la capture de la lumière. Elles ne font pas toutes le même usage des radiations lumineuses: certaines recherchent beaucoup de lumière et d'autre peu (Anne, 2002).

I.4.2. Le substrat (ou support)

Les algues n'ont pas de racines et ne peuvent donc tirer aucune nourriture de leur support. Les éléments nutritifs viennent du milieu qui les baigne. Néanmoins, le substrat ou

soutien joue un rôle par sa nature et ses caractéristiques et déterminera l'espèce qui viendra s'y fixer. Les roches calcaires par exemple, sont envahies par les algues perforantes microscopiques, ce qui leur confère une coloration spécifique. A l'inverse, certaines autres espèces fuiront le substrat calcaire (**Anne, 2002**).

En outre, le support peut être en eau profonde ou peu profonde comme sur les rochers, les constructions portuaires, les bouées ou les coques de bateaux. Elles peuvent aussi se développer sur un organisme vivant animal ou végétal (**Anne, 2002**).

I.4.3. Les facteurs hydrodynamiques

Les vagues, les courants et les marées créent une agitation de l'eau de laquelle dépendent les réactions des algues. Ainsi, chaque espèce supporte différemment ces facteurs hydrodynamiques. Ceux-là agissent donc sur la composition des peuplements d'algues (**Anne, 2002**).

I.4.4. La température

Elle agit sur le système métabolique et reproducteur de l'algue. C'est alors que des variations de température peuvent agir sur la dispersion ou la régression des peuplements (**Anne, 2002**).

I.4.5. La salinité de l'eau

La salinité agit de deux façons sur l'algue: soit par dissolution du sel dans l'eau, soit par concentration du sel dans l'eau. Ces modifications temporaires ou permanentes peuvent incommoder la vie de l'algue. Les zones à salinité variable limitent l'adaptation des algues.

Cette instabilité intervient sur le métabolisme, le perturbe à tel point parfois qu'elle entraîne une élimination des espèces. Seules les algues vertes réussissent à s'adapter (**Anne, 2002**).

I.5. Composition des algues marines

I.5.1. Polyphénols

Appelés **phlorotannins** chez les algues, constitués par la polymérisation du phloroglucinol ou défini en tant qu'une unité du monomère 1,3,5-trihydroxybenzene et biosynthétisées par la voie d'acétate malonate. Ces phlorotannins sont retrouvés chez plusieurs familles d'algues brunes, comme Alariaceae et les Sargassaceae.

Chez les algues brunes les phlorotannins peuvent constituer 15% du poids sec, ils sont le seul groupe phénolique détecté, ils sont hydrophiles avec une taille moléculaire entre 126 et 650 kDa (**Sathya et al., 2013**).

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 superoxyde et aux radicaux d'hydroxyle (Sathya et al., 2013).

I.5.2. Polysaccharides sulfatés (SPS)

Ce sont des polymères des sucres simples liés par des liaisons glycosidiques (Kannan et al., 2014). 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 fucoïdane et des laminarane d'algues brunes et du carraghénane des algues rouges, et ulvane 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 contribuant important dans la carcinogénèse (Li et Kim, 2011).

I.6.3. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments organiques tétraterpénoides, ce sont synthétisés naturellement au niveau des chloroplastes et des chromoplastes des plantes et quelques autres organismes photosynthétiques comme les algues, quelques types de mycètes 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).

I.5.4. Peptides

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 élevée. 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).

I.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).

I.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. Le 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).

I.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 fragile* a 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**).

I.6. Applications des Algues marines

Il existe plusieurs domaines économiques qui font appel à des algues ou à des phycocolloïdes. Elles présentent actuellement une source nutritionnelle et un produit à valeur montante, surtout en Asie où elles sont utilisées directement comme aliments, ou indirectement surtout par l'industrie de phycocolloïdes (agars et alginates). Elles sont utilisées en agriculture comme engrais et fourrage, dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique, dans le textile, et dans bien d'autres domaines (**Chopin, 1997**).

I.6.1. En alimentation humaine

Les algues sont consommées en Asie depuis l'aube de l'humanité. En Occident, cette consommation directe d'algues est plus marginale et plus récente. Elles ont été récemment approuvées pour une consommation humaine (comme légumes et condiments), ouvrant ainsi de nouvelles opportunités pour l'industrie agro-alimentaire (**Mabeau et Fleurence, 1993**).

Ces macroalgues contiennent des protéines, lipides, vitamines et minéraux et constituent donc une source d'aliment précieuse (**Sanchez-Machado et al., 2004; Noziah and Ching, 2000; Wong and Cheung, 2000**). Environ 75% de la production d'algues produites mondialement (8 millions de tonnes d'algues fraîches) est destinée à l'alimentation humaine directe.

I.6.2. En agriculture

Depuis longtemps les populations littorales fertilisaient leurs terres à l'aide macroalgues surtout avec les grandes algues brunes qui sont recueillies généralement au niveau des plages, puis lavées et coupées. Les effets des macroalgues comme fertilisants diffèrent selon l'algue utilisée. En général, ce n'est pas dû seulement aux composants chimiques de l'algue et à la

valeur nutritionnelle de l'algue, mais aussi aux propriétés physiques des polysaccharides de l'algue lesquels aident à améliorer le structure du sol (**Kim, 1970**).

L'emploi des fertilisants naturels devrait permettre une diminution de la quantité d'engrais chimiques et des traitements phytosanitaires classiques polluant le sol ou/et la récolte (**Pérez, 1997**).

I.6.3. Fourrages

Les algues font partie de la liste positive non exhaustive des matières premières pour aliments des animaux. Elles apparaissent sous deux dénominations : farines d'algues marines pour les algues brunes et algues marines pour le lithothamne. Les algues ont été utilisées traditionnellement en alimentation animale pendant des centaines d'années. Leur utilisation actuelle reste cependant marginale du fait de leur coût relativement élevé (**Dominique, 2005**).

I.6.4. Le traitement des eaux usées

Il existe un usage potentiel des algues marines pour le traitement des eaux usées. Par exemple, certaines algues sont capables d'absorber les ions de métaux lourds tels que le zinc et le cadmium des eaux polluées (**Fao, 2014**).

I.6.5. Dans le domaine pharmaceutique et médical

Plusieurs composés chimiques isolés des macroalgues sont biologiquement actifs dont certains possèdent une activité pharmacologique efficace (**Rorrer et Cheney, 2004**).

Sur le marché pharmaceutique environ 40 médicaments sont déjà fabriqués à partir de matières chimiques d'algues. En ce qui concerne l'agar-agar son usage est répandu dans la préparation de milieux de cultures nécessaires pour la microbiologie. Il est aussi employé avec succès dans le traitement de la constipation. Le carraghénane est administré contre les irritations du tube digestif et dans le cas d'une dysenterie. En pharmacologie, il est employé comme agent émulsionnant dans l'homogénéisation des huiles et comme l'agar, c'est un hémostatique efficace. L'alginate comme le carraghénane, joue un rôle dans la prévention des ulcères. Un médicament appelé communément « mousse de corse » est connu pour son usage comme excellent vermifuge contre les oxyures et les ascaris (**Naegelé, 1967**).

I.7. *Asparagopsis armata*

Asparagopsis armata a été décrite pour la première fois sur la côte ouest australienne (**Harvey, 1854**) et est également présente naturellement en Nouvelle-Zélande (**Adams, 1994**). 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 (**Feldmann & Feldman 1939, 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**).

I.7.1. Description

Le thalle d'*Asparagopsis armata* de couleur rouge rosé à rose pale et se présente en touffes au contour pyramidal, de 15 à 30 cm de long. L'axe principal, cylindrique, d'un diamètre proche de 1 mm, est ramifié irrégulièrement. Les axes portent une succession alternée de rameaux longs à croissance indéfinie, de rameaux courts et de rameaux épineux, en forme de harpon. Les rameaux longs garnis de fin filaments (ou ramules) forment de petites touffes pyramidales (**Reviers B, 2002**).

Dans la partie supérieure de l'algue. Les rameaux en forme de harpons sont disposés par paire à la base des axes secondaires et vont permettre aux frondes de cette algue de s'accrocher aux algues environnantes ou à divers supports.

Les plongeurs peuvent en faire l'expérience : s'ils passent trop près d'*Asparagopsis armata*, l'algue restera accrochée à leur combinaison. Le thalle a une structure uni-axiale, à croissance apicale (**Reviers B, 2002**).

Les cellules superficielles contiennent de nombreux plastes discoïdes ou rubanés, alors que les cellules internes ont des plastes peu nombreux et plus allongés. A la base du thalle, des stolons plus ou moins ramifiés contribuent à sa fixation sur la roche ou sur d'autres algues. L'algue contient des cellules spécialisées iodiques, contenant de l'iode. Lorsque l'on étale l'algue sur du papier, l'iode réagit avec la cellulose du papier. On observe une auréole bleutée autour de l'algue (**Reviers B, 2002**).

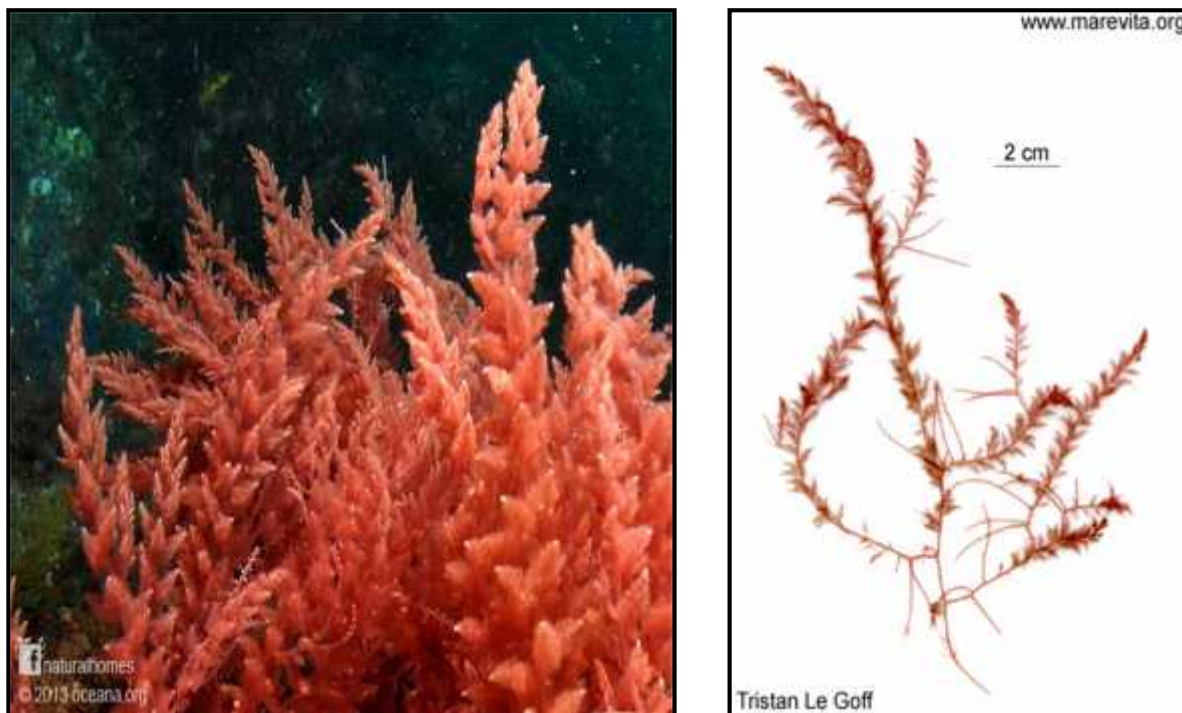


Figure 03. La morphologie de l'algue rouge *Asparagopsis armata*. Photo : E. Talledo – OCEANA (Otero et al., 2013).

I.7.2. 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 Bongiophycees, 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*.

I.7.3. Répartition de l'espèce

Asparagopsis armata est connue pour avoir une répartition en région tempérée. En effet, les études de croissance et de survie à différentes températures ont montré que la phase tétrasporophyte a une tolérance à la température comprise entre 25°C max et 5-7°C min, et une croissance possible entre 21-23°C max et 9°C min (Guiry & Dawes 1992, Ní Chualáin et al., 2004). La température est considérée comme un facteur majeur pour la répartition des espèces, avec la disponibilité en substrat (Garbary, 1987).

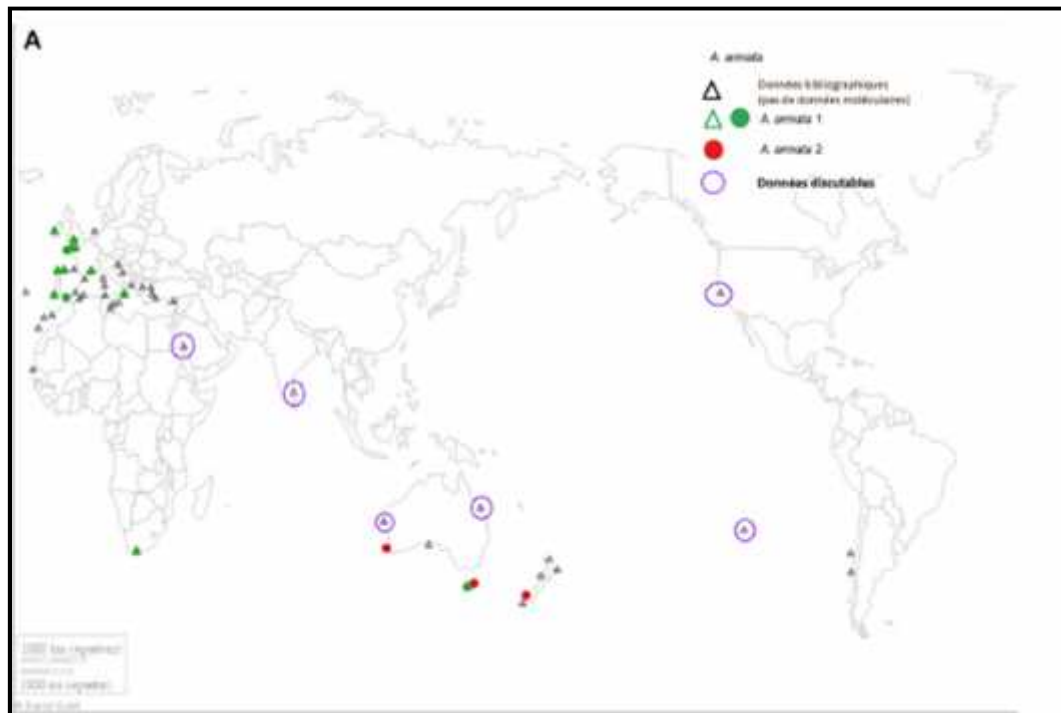


Figure 04. Carte de répartition d'*A. armata* (extrait de Dijoux et al., 2014).

I.7.4. Reproduction

La plupart des algues rouges sont réputées pour posséder un cycle de développement particulièrement complexe.

Dans le cas d'*Asparagopsis* la reproduction se fait suivant un cycle **trigénétique** (alternance de trois générations) :

La première génération est sexuée, et se présente sous forme de gamétophytes à n chromosomes (haploïde). Le gamète femelle demeure hébergé par le gamétophyte et l'œuf issu de la fécondation engendre, sur le gamétophyte porteur, une génération parasite à développement réduit : le carposporophyte (deuxième génération, asexuée) (Cabioc'h et al., 1992). Ce carposporophyte à $2n$ chromosomes formera des carpospores qui germeront pour

donner la troisième génération, ou tétrasporophyte, diploïde, et qui fournit des spores (tétraspores) dont le développement générera à nouveau des gamétophytes.

Dans notre cas, le cycle est trigénétique **hétéromorphe**, le tétrasporophyte étant très différent des gamétophytes. L'algue *Asparagopsis armata* représente la phase gamétophyte d'*Asparagopsis* (Garon-Lardiere, 2004).

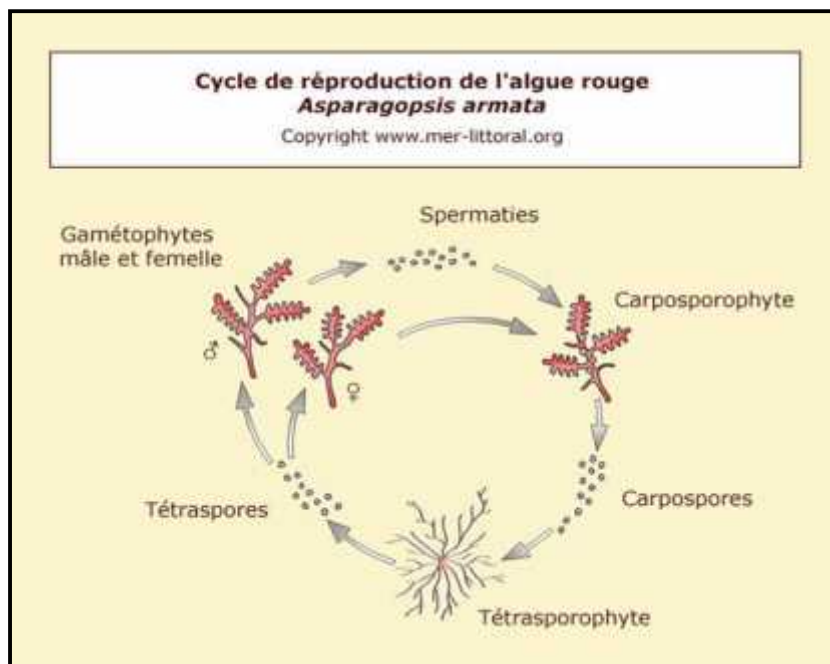


Figure 05. Le cycle de développement d'*Asparagopsis armata*.

II. Généralités sur les bactéries pathogènes étudiées

Les germes qui ont fait l'objet des tests antimicrobiens font partie des microorganismes rencontrés en pathologie humaine. Il s'agit de souches bactériennes à Gram positif: (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) ; de souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*).

Le choix de ces germes est basé sur les résultats obtenus lors de l'étude réalisée sur les algues récoltées de la côte rocheuses de la plage salamandre de la wilaya de Mostaganem.

II.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 hémolysinesetc. 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, 1995).

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).

II.2. Les bactéries à Gram négatif

II.2.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles à coloration de Gram négative, non sporulés, anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase (Freter et al., 1983 ; Kaper et al., 2004 ; Russo et Johnson, 2000).

La plupart des *E.coli* se multiplient rapidement (18 à 24 h) sur les milieux habituels. Les colonies ont en moyenne 2 mm de diamètre, elles sont rondes, plates et à bords réguliers **(Joly et Reynaud, 2002)**. L'espèce *E. coli* est considérée comme un hôte normal, c'est-à-dire commensal, de la microflore digestive de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud **(Freter et al., 1983 ; Kaper et al., 2004 ; Russo et Johnson, 2000)**.

Les souches *Escherichia coli* sont retrouvées dans le tractus gastrointestinal de nombreux animaux à sang chaud, dont l'homme, où elles jouent communément le rôle de bactérie commensale. Cependant, l'acquisition et la combinaison de facteurs de virulence chez les souches *E. coli* peuvent entraîner des modifications de leur comportement pouvant occasionner diverses infections telles des infections intestinales **(Levine et Edelman, 1984)**, ou extra-intestinales.

Les *E. coli* à l'origine de maladies intestinales ont en commun de se multiplier dans l'intestin de leurs hôtes. Ce premier groupe de pathogènes est subdivisé en 6 pathovars majeurs **(Croxen et Finlay, 2010)**, selon le type de maladie engendrée et les facteurs de virulence associés : les ETEC (*E. coli* Entérotoxinogènes), les EHEC (*E. coli* Entérohémorragiques), les EPEC (*E. coli* entéropathogènes), les DAEC (*E. coli* à adhérence diffuse), les EAEC (*E. coli* entéroagréгатives) et les EIEC (*E. coli* entéroinvasives). Le deuxième groupe de *E. coli* à l'origine de maladies extra- intestinales (ExPEC) a acquis la capacité de déjouer les défenses immunitaires de l'hôte, et à se propager dans l'organisme (Johnson et Russo, 2005). Elles peuvent induire chez leurs hôtes des infections du tractus urinaire (ITU) : UPEC, « Urinary Pathogenic *E. coli* » ; des méningites néonatales : NMEC, « Neonatal Meningitis *E.coli* » ; ou des septicémies **(Mokady et al., 2005)**. Elles posent problème autant en médecine humaine, (notamment à cause des multiples résistances acquises portées le plus souvent par des plasmides), qu'en médecine animale.

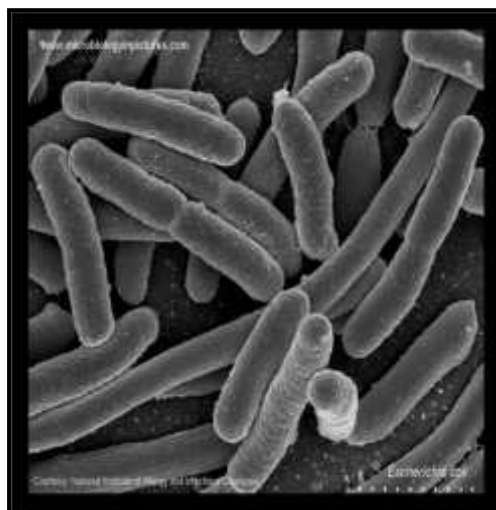


Figure 07. *Escherichia coli* au microscope électronique
(www.microbioligyinpictures.com).

II.2.2. *Klebsiella pneumoniae*

Est une bactérie appartenant à la famille des Entérobacteriaceae, elle représente l'espèce type du genre *Klebsiella*. Elle fait partie de la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux en faible quantité (**Raud, 2003**). C'est un bacille Gram négatif de 1 à 4 μm de long sur 0.4 à 0.6 μm de large, immobile généralement entouré de capsule polysidique donnant un aspect muqueux typique du genre. C'est une bactérie aéro-anaérobie facultative (**Raud, 2003**).

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 et Chikhani, 2012**).

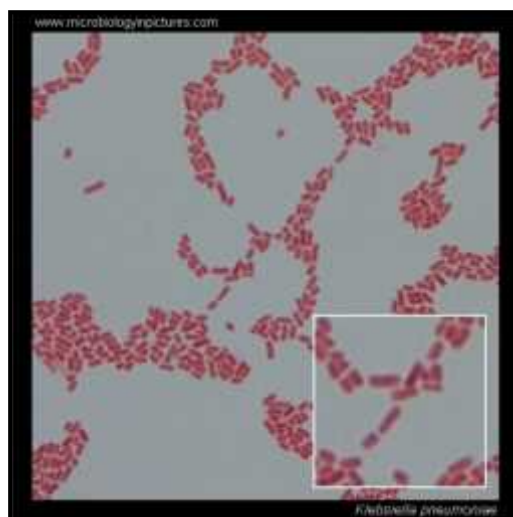


Figure 08. Coloration de Gram des *Klebsiella pneumoniae*.

(www.microbiologyinpictures.com).

II.2.3. *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) (Giraud, 1998).

P. aeruginosa est un pathogène opportuniste capable d'infecter une grande variété d'hôtes : humain, souris, insectes, nématodes, plantes et amibes (D'Argenio *et al.*, 2001; Pukatzki *et al.*, 2002; Rahme *et al.*, 1995). Chez l'homme, *P. aeruginosa* colonise particulièrement les personnes immunodéprimées (patients atteints de leucémie, SIDA, cancer), les grands brûlés, les patients en soins intensifs ou atteints de la mucoviscidose (Bielecki *et al.*, 2008; Branski *et al.*, 2009; Lyczak, 2000). Elle est capable de coloniser une grande diversité de tissus. Elle provoque des bactériémies, des infections intestinales, urinaires, des dermatites, des otites externes, des kératites ulcéreuses chez les porteurs de verres de contact, des infections de la peau chez les grands brûlés, des endocardites chez les patients abusant de drogues intraveineuses, (Bielecki *et al.*, 2008; Bodey *et al.*, 1983; Branski *et al.*, 2009). *P. aeruginosa* est également capable de causer des méningites et des ostéomyélites en infectant le système nerveux central et les structures osseuses (Carek *et al.*,

2001). Cette bactérie est impliquée dans des infections nosocomiales (Vitkauskienė *et al.*, 2010; Rosenthal *et al.*, 2011).



Figure 09. *Pseudomonas aeruginosa* au microscope électronique.

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

II.3. Les bactéries à Gram positif

II.3.1. *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).

Pouvoir pathogène

Bien qu'étant commensal, *S. aureus* est également responsable d'un grand nombre d'infections chez l'Homme, notamment des infections cutanées et des infections des muqueuses (Engl et Med, 1998). Ces infections peuvent mener à des bactériémies et faire l'objet de métastases septiques à l'origine de foyers infectieux profonds. Dans 10 % des bactériémies, une endocardite survient comme complication (Pilly, 2008). La porte d'entrée principale de *S. aureus* est cutanée, comme peuvent l'être une plaie ou le point d'un cathéter.

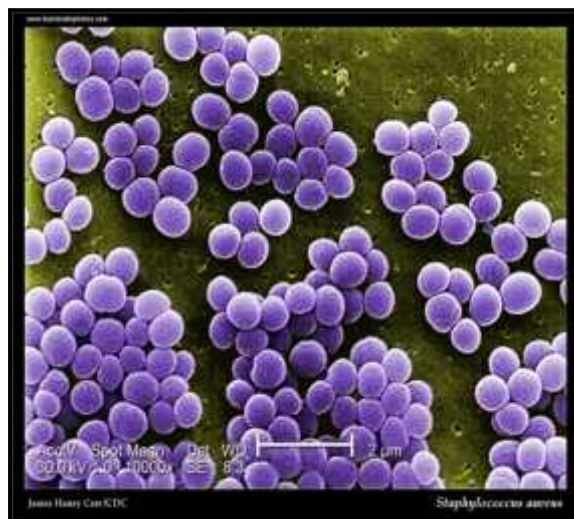


Figure 10. *Staphylococcus aureus* au microscope électronique.

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

II.3.1. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis appartient à l'embranchement des firmicutes, à la famille des bacillaceas et au genre *Bacillus*. Comme son embranchement l'indique, c'est une bactérie à Gram positif. Les cellules sont de morphologie bacilliforme. Les tailles sont variables de 2 à 10 μm en longueur et de 0.5 à 2 μm en largeur. *B. subtilis* est mobile grâce à une ciliature pérित्रiche. *B. subtilis* est une bactérie catalase positive, aérobie ou aéro-anaérobie. Les formes végétatives et les spores font de *B. subtilis* une bactérie ubiquitaire que l'on peut isoler de l'eau de mer, de l'eau douce ou des aliments (Sonenshein et al., 2002).

La bactérie peut produire un endospore qui permet à l'organisme de supporter les conditions environnementales extrêmes (chaleur, sécheresse, l'irradiation UV) (Kilian et al., 2000). Ce bacille peut produire des antibiotiques spécifiques, comme la difficidine et l'oxydifficidine (Zimmerman et al., 1987), mais aussi des antibiotiques plus communs, comme la bacitracine, la bacilline et la bacillomycine B (Parry et al., 1983).

Cette bactérie n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme mais peut exceptionnellement contaminer les aliments et causer une intoxication alimentaire (Sonenshein et al., 2002).

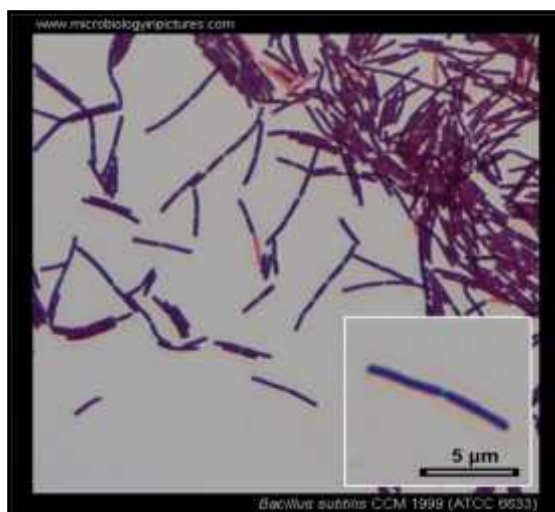


Figure 11. Coloration de Gram des *Bacillus subtilis*.

(www.microbiologyinpictures.com).

Matériel et méthodes

I. Matériel

I.1. Zone d'échantillonnage

L'échantillon d'algue marine *Asparagopsis armata* étudiée a été récoltée en mois de Avril 2017 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.



Figure 11. Station de la récolte de l'algue rouge marine *Asparagopsis armata* (Wilaya de Mostaganem ; Salamandre) (Google maps, 2017).



Photo 01. Photo de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* à l'état frais.

I.2. Souches microbiennes

Les souches microbiennes utilisées dans cette étude proviennent de l'ATCC, de l'IBMC et CIP (**Tableau 03**). Leur croissance est réalisée à 37°C sur gélose Mueller-Hinton Agar (MHA bio Mérieux) pour les souches bactériennes.

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>Bacillus subtilis</i>		ATCC 6633	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.

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

I.3. Choix des milieux de culture

Suivant les méthodes employées dans l'essai et selon les souches, nous avons utilisée comme milieux de culture solide Muller Hinton (MH) (Annexe). C'est le milieu de culture utilisé pour étudier l'activité antibactérienne parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens (**Gachkaret *al.*, 2006**). La gélose Mueller – Hinton est utilisée pour l'étude de la sensibilité de la bactérie aux différents extraits d'algues.

II. Méthodes

II.1. Préparation des extraits d'algues

Au laboratoire, cet échantillon est à nouveau rincé avec de l'eau de robinet puis avec l'eau distillée pour le mettre à l'obscurité et à la température ambiante jusqu'à la déshydratation complète (**Photo 2 (A)**). Après séchage, L'algue est broyée à l'aide d'un mortier (**Photo 02 (B)**). 25 g de cette poudre sont introduits dans deux flacons en verre contenant 200 ml de dichlorométhane (99.99%) (**Photo 03**).

Après 24 heures de macération à température ambiante et sous agitation (250 rpm) le contenu des flacons est filtré plusieurs fois à l'aide du papier Wattman N°1. Les filtrats 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 DMSO pour une concentration finale de 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* (**Chenguiti & Mouissa, 2017**).

(A) Algue séché ; (B) Algue broyer.



Photo 03. Photo de la macération d'algue marine *Asparagopsis armata* (Chenguiti & Mouissa, 2017).



Photo 04. Evaporateur rotatif.

II.2. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est déterminé par rapport de la poudre initial 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 (25 g).

II.3 Test de sensibilité aux antibiotiques

Le but de réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts.

Les antibiotiques utilisés dans cette étude sont indiqués dans le **Tableau (02)** suivant :

Tableau 02. Liste des antibiotiques testés sur les bactéries.

Antibiotiques	Code	Charge
Cefoxitine	FOX	30µg
Gentamicine	CN	10µg
Acide Nalidixique	NA	30µg
Imipenen	IMI	10µg
Amikacin	AK	30µg
Amoxicilline	AML	30µg
Céfataxime	CTX	30µg
Ticarciline+Acide Clavulanique	TIM	10µg
Ampicilline	AMP	10 µg

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 (Müeller-Hinton Agar), préalablement ensemencé avec un inoculum à 0.1 Macfarland des souches à étudier. La lecture fait après 24 heures d'incubation à 37°C.

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

II.4. Tests antibactériennes

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 Mueller-Hinton Agar et la méthode des disques qui permettent la mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'extrait.

II.5. Préparation de l'inoculum

II.5.1. Préparation de pré-culture

Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24 heures). La réactivation des souches est effectuée par un repiquage réalisé dans des boîtes de Pétri contenant de (MH) puis, incubées à 37°C pendant 24 heures. **(Duraffourd et al., 1990)**

II.5.2. Préparation de la suspension bactérienne

A partir des cultures jeunes sur (MH). On prélève 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 10 ml d'eau physiologique stérile, on agite au vortex pendant quelques secondes. La standardisation de la suspension à 10^8 UFC/ml, **(Benkherara et al., 2013)** est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625 nm. On Mac Farland de 0.5 on admet une DO comprise entre 0,08 et 0,1 correspond à une concentration de 10^8 UFC/ml. **(Atwal, 2003 ; Bendahou et al., 2007).**

II.6. Technique de diffusion en milieu solide

II.6.1. méthode des puits

L'activité inhibitrice de l'extrait organique d'*Asparagopsis armata* obtenu est testée par la méthode des puits. Le DMSO 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. Un aliquote de 40 µl de l'extrait est introduit dans un puit de 6 mm de diamètre, dans la gélose Mueller-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.

II.6.2. Méthode des disques

Avec une suspension microbienne pure fraîchement préparée etensemencée sur le milieu gélosés. Nous imbibons un disque de papier Wattman stérile N°01 de 6 mm de diamètre avec 10 µl d'extrait puis nous les déposons sur la surface de géloseensemencée ensuite les incubons l'ensemble pendant 24 heures à 37 C°.

II.7. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme la plus faible concentration inhibant toute croissance bactérienne visible à l'œil nu, après 18 à 24 heures d'incubation **(Caquet, 2004).**

La détermination de CMI est faite en utilisant la méthode de dilution en milieu solide Mueller-Hinton décrite par **Tunçel et Nergiz, (1993).** Pour cela, l'activité antibactérienne

d'une série de concentrations de l'extrait dichlorométhanique de l'algue rouge *Asparagopsis armata* comprises entre 0.6 et 133.33 mg/mL (**Photo 5**) est mesurée. Le DMSO pur est utilisé comme un témoin négatif. 40 µl de chaque concentration sont introduits dans des puits de 6 mm de diamètre, dans la gélose Mueller-Hinton Agar préalablementensemencée par écouvillonnage avec l'inoculum de chaque suspension bactérienne d'une culture jeune (10^8 UFC/ml). Après incubation des boîtes de pétri à 37°C pendant 24 heures, la croissance des bactéries est comparée à celle du témoin.

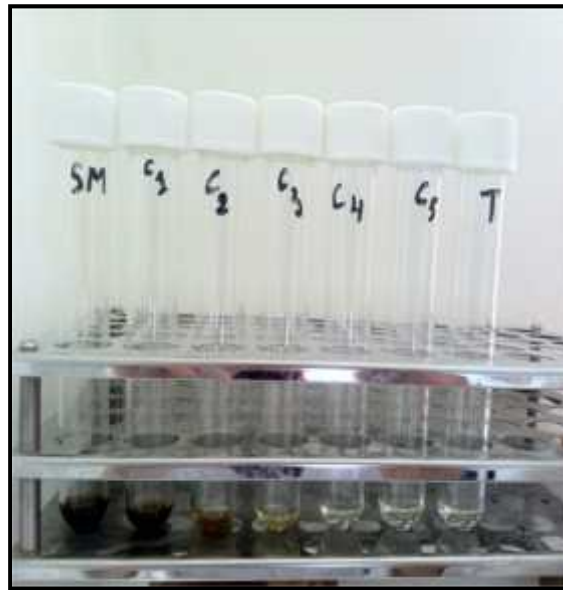


Photo 05. Les dilutions de l'extrait d'algue *Asparagopsis armata*.

Résultats et discussion

I. Rendement des extraits bruts

L'extraction à l'aide de dichlorométhane comme solvant a donné un rendement d'environ 5%. Ce résultat est plus au moins proche que celui trouvé par **Doukhani et Taibaoui (2015)**.

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**).

De plus, le dichlorométhane semble c'est avéré le meilleur solvant d'exaction des agents antibactériens, vue que toutes les bactéries testées ce sont montrées extrêmement sensibles en présence de cet extrait. De même (**Moujahid et al, 2004**) ont trouvé que l'extrait dichlorométhanolique a un effet inhibiteur important vis-à-vis de quelques souches bactériennes.

II. L'activité antibactérienne

II.1. Résultats de tests de sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme a pour but de prédire la sensibilité d'un microorganisme vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. Cette sensibilité est exprimée par l'apparition de zones d'inhibition autour de ces disques. Il a été réalisé au préalable lors des tests antibactériens, comme un témoin afin d'évaluer l' pouvoir antibactérien de l'extrait dichlorométhanique. La **Photo (06)** indique les résultats de l'effet de quelques antibiotiques sur les souches bactériennes étudiées.



Escherichia coli



Pseudomonas aeruginosa



Klebsiella pneumoniae



Staphylococcus aureus



Bacillus subtilis

Photo 06. Effet de quelques antibiotiques sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

D'après les résultats indiqués dans le **Tableau (03)** on remarque que les différents antibiotiques possèdent des effets distincts sur les bactéries testées.

Pour cela, on observe que les différentes souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques testés. Parmi les souches étudiées, les *Pseudomonas aeruginosa*, *K.pneumoniae* et *Bacillus subtilis* se révèlent multi-résistantes, tandis que les souches *E.coli* et *Staphylococcus aureus* sont les plus sensibles à la plus part des antibiotiques testés. Nous remarquons que toutes les bactéries résistent à l'IMI mais sensibles à la CN.

Tableau 03. Résultats de l'antibiogramme des germes étudiés en présence de différentes ATB (diamètre de la zone d'inhibition en mm).

Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)					
Antibiotiques	Gram Négatif			Gram Positif	
	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>
AMP : 10 µg	10.35 ± 0.070	6 ± 0	6 ± 0	41.75 ± 0.777	6 ± 0
AML : 30µg	10.5 ± 0.2	6 ± 0	6 ± 0	44.55 ± 0.070	6 ± 0
CN : 10 µ	21.075± 0.007	19.65 ± 0.212	20.5 ± 0.424	27.15 ± 0.494	24.15 ± 0.070
NA : 30µg	21.05 ± 0.212	6 ± 0	17.55 ± 0.777	7.8 ± 0.141	11.55 ± 0.353
IMI : 10µg	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
FOX : 30 µg	23.55 ± 0.070	6 ± 0	17.8 ± 0.565	28.4 ± 0.424	12.4 ± 0.141
CTX : 30 µg	28.05 ± 0.49	14.3 ± 0.141	29.75 ± 0.636	25.2 ± 0.424	6 ± 0
AK : 30 µg	24.35 ± 0.21	25.25 ± 0.212	20.8 ± 0.282	28.15 ± 0.353	27.1 ± 0.141
TIM : 10µg	12.45 ± 0.070	6 ± 0	6 ± 0	29.2 ± 0.424	6 ± 0

II.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion

Les résultats des tests antibactériens réalisés par la méthode de diffusion sur milieu solide montrent que l'extrait dichlorométhanique d'*Asparagopsis armata* a une excellente activité antibactérienne contre les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif qui se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition (**Photos 07 et 08**). Les composés chimiques présents au niveau de l'algue *Asparagopsis armata* ayant une activité antibactérienne peuvent être donc plus ou moins hydrophobe tels que les composés terpéniques et les lipides (Moujahid et al., 2004 ; Paul et al., 2006 ; Noemi et al., 2007).



Escherichia coli



Pseudomonas aeruginosa



Klebsiella pneumoniae



Staphylococcus aureus



Bacillus subtilis

Photo 07. Résultats de l'effet des extraits d'*Asparagopsis armata* sur les souches microbiennes par la méthode de diffusion sur puits.



Photo 08. Résultats de l'effet des extraits d'*Asparagopsis armata* sur les souches microbiennes par la méthode de diffusion sur disques.

On remarque également que l'extrait d'algue a montré une activité antibactérienne contre toutes les souches bactériennes étudiées sans aucune exception avec des degrés d'inhibition variables. Cet effet antibactérien est plus ou moins proche à celui obtenu avec les antibiotiques de références. Le DMSO pur, utilisé comme solvant de solubilisation des résidus secs d'algue rouge n'a aucun effet antibactérien sur les souches étudiées.

Les bactéries à gram négatif semblent être moins sensibles vis-à-vis de l'extrait dichlorométhanique par rapport aux bactéries à gram positif.

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 micro-organismes (structure et la composition de paroi cellulaire).

La méthode de diffusion sur puits nous a permis d'observer des zones d'inhibitions comprises entre 24 mm et 37 mm pour toutes les souches bactériennes étudiées. Tandis que les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait dichlorométhanique réalisée par la méthode de diffusion sur disque était plus ou moins faible ou des zones d'inhibitions de 10.85 à 17.34 mm ont été observées (**Tableaux 04 et 05**).

Nous pouvons dire que *Staphylococcus aureus* est la souche bactérienne la plus sensible à l'extrait dichlorométhane par rapport aux autres bactéries. Il serait donc intéressant d'utiliser l'algue marine rouge *Asparagopsis* comme source d'agent anti-staphylococcique pour lutter contre les infections nosocomiales.

D'après nos résultats décrit précédemment, on peut dire que l'extrait dichlorométhanique de l'algue rouge *Asparagopsis* a un pouvoir antibactérien puissant par rapport à l'AMP, l'AML, le TIM et l'IMI vue que ces derniers sont inactifs sur la plus part des souches bactériennes.

Tableau 04. Résultats de la méthode des puits de l'effet antibactérien de l'extrait dichlorométhanique (40 µl/puits à 200 mg/mL) de l'algue rouge *Asparagopsis armata*.

Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)				
Gram Négatif			Gram Positif	
<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>
29.535±0.063	30.33 ± 0	24.58±0.007	37.88±0.523	31.02±0.565

Tableau 05. Résultats de la méthode des disques de l'effet antibactérien de l'extrait dichlorométhanique (10 µl/disque à 200 mg/mL) de l'algue rouge *Asparagopsis armata*.

Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)				
Gram Négatif			Gram Positif	
<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>
11.415±0.063	12.32 ± 0.070	10.855±0.021	17.345±0.063	12.735±3.118

D'après ces résultats, on constate que l'algue rouge *Asparagopsis armata* est riche en agents inhibiteurs antibactériens. La méthode d'extraction utilisée dans notre travail a probablement permis d'obtenir des extraits qui contiennent plusieurs principes actifs responsables de l'inhibition des souches bactériennes.

Dans la littérature, la majorité des composés responsables de l'activité antibactérienne sont les dérivés terpéniques (König et al., 1999, Etahiri et al., 2001, Wang et al., 2007, Smyrniotopoulos et al., 2008, Vairappan et al., 2008, Chakraborty et al., 2010), phénoliques (Xu et al. 2003 , Oh et al., 2008, Etahiri et al., 2007) et lipidiques (Findlay et Patil. 1986, Siddiqui et al., 1993, Al- Fadhli et al., 2006, Paul et al., 2006).

Gao et al., (2011), ont montré que les algues marines n'ont pas seulement une activité antibactérienne ou antifongique, mais ils sont aussi toxiques pour les cellules cancéreuses.

Notre résultat est en accord avec Farid et al., (2012) qui ont montré que l'algue rouge *Asparagopsis armata* a un effet inhibiteur remarquable vis-à-vis *S. aureus*, en utilisant un extrait contient un mélange de dichlorométhane et méthanol (V/V), ils ont trouvé que cette algue est plus inhibitrice pour *S. aureus* par rapport à d'autres espèces d'algue rouge.

Farid et al., (2012), ont montré aussi que les algues rouges y compris *Asparagopsis armata* ont une forte activité antibactérienne par rapport aux algues vertes et brunes.

Susete et al., (2015), ont également travaillé sur l'activité antibactérienne des algues, ils ont utilisé trois solvants : le Méthanol, Dichlorométhane et l'Hexane, mais ils n'ont pas obtenu une inhibition pour l'*E.Coli* lorsqu'ils ont utilisé l'extrait d'*Asparagopsis armata*. Cela peut être dû à la méthode d'extraction différente qu'ils ont utilisée dans leur travail.

Certains paramètres ont un effet sur l'activité antimicrobienne, il ya toujours une relation étroite entre l'activité antibactérienne des algues, la saison de récolte et certains paramètres physicochimiques tels que la température, la lumière, les sels minéraux et les mouvements de l'eau (**Amimi et al., 2013 ; El Omari et al., 2013**), ils constituent les paramètres écologiques essentiels dans la détermination de la fertilité des algues et donc affectent de façon notable la présence de tel ou tel composé bioactif responsable de l'activité biologique (**Younes et al., 2009**).

Bansemir et al., (2006), ont trouvé également que l'extrait dichlorométhanique d'algue rouge *Asparagopsis armata* a une activité antibactérienne puissante sur des bactéries pathogènes des poissons.

III.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 avons pu déterminer les valeurs de CMI de l'effet de l'extrait dichlorométhanique de l'algue *Asparagopsis armata* en utilisant la méthode de diffusion sur puits et les résultats trouvés sont regroupés dans le **Tableau (6)**. D'après les **Photos (09-13)** on constate que la CMI pour les bactéries *B.subtilis* ; *S.aureus* et *E.coli*. est d'environ 0.14 mg/puits ou une faible zone d'inhibition a été observée d'environ 10 mm tandis. La valeur de CMI déterminée pour *K.pneumoniae* est de 0.88 mg/puits. *P. aeruginosa* possède la valeur de CMI la plus élevée et c'est donc la souche la plus résistante par rapport aux autres bactéries.

Tableau 06 : Résultats de la détermination de CMI par la méthode de puits de l'effet de l'extrait dichlorométhanique d'*Asparagopsis armata* sur les bactéries à Gram+ et à Gram-.

Extrait dichlorométhanique mg/puit	0*	8.00	5.33	2.66	0.88	0,14	0,024
<i>E.coli.</i>	6.00 ±0.00	32,44±0,00	19.69 ±0.31	15,14 ±0,45	10,54 ±0,15	9,085 ±0,00	6.00 ± 0.00
<i>P.aeruginosa</i>	6.00 ±0.00	30,33 ± 0.00	22,86 ±0,14	16,43 ±0,01	6.00 ± 0.00	6.0 0± 0.00	6.00 ± 0.00
<i>K.pneumoniae</i>	6.00±0.00	24.58±0.00	23,89±0.29	19,96 ±0,24	15,14 ±0,01	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00
<i>S.aureus</i>	6.00±0.00	37,88±0,52	22,77±0,16	12,155±0,02	11,69±0,205	9,54±0,014	6.00 ± 0.00
<i>B.subtilis</i>	6.00 ±0.00	31,02±0,56	24,28±0,55	17,35±1,06	13,23±0,77	10,46±0,23	6.00 ±0.00

0* : témoin



Photo 09. Le résultat de CMI par la méthode de puit de l'extrait d'*Asparagopsis armata* sur *E.coli*.



Photo10. Le résultat de CMI par la méthode de puits de l'extrait d'*Asparagopsis armata* sur *P.aeruginosa*.



Photo 11. Le résultat de CMI par la méthode de puits de l'extrait d'*Asparagopsis armata* sur *K.pneumoniae*.



Photo 12. Le résultat de CMI par la méthode de puits de l'extrait d'*Asparagopsis armata* sur *S.aureus*.



Photo 13. Le résultat de CMI par la méthode de puits de l'extrait d'*Asparagopsis armata* sur *B.subtilis*.

Conclusion

Depuis longtemps, les algues sont reconnues comme un aliment de haute valeur nutritive grâce à leur contenance en vitamines, en minéraux, acides gras et acides aminés essentiels au corps humain. Dernièrement, la découverte de nouveaux composés bioactifs d'origine algale permet leur utilisation à des fins thérapeutiques.

L'Algérie avec sa longue bonde côtière de 1600 km, constitue une source inexploitable en algues marine.

Le présent travail s'oriente vers une voie de valorisation d'une algue marine très peu exploitée en Algérie.

Dans ce contexte nous sommes intéressés à évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait dichlorométhanique de l'algue rouge *Asparagopsis armata* de la cote marine de Mostaganem vis-à-vis de souches bactériennes Gram positives et Gram négatives .

L'extrait dichlorométhanique est susceptible d'inhiber de manière significative la croissance en milieu solide des bactéries gram positive et les bactéries gram négatif. Parmi les souches microbiennes étudiées, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* sont les souches les plus sensibles vis-à-vis de cet extrait tandis que *E. Coli* est plus ou moins sensible.

Les valeurs de CMI montrent que *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* sont les souches les plus résistante vis-à-vis d l'extrait dihlorométhanique.

Nos résultats suggèrent la possibilité d'utiliser l'algue marine *Asparagopsis armata* comme une source prometteuse et alternative aux antibiotiques actuellement utilisé.

Afin d'approfondir ce travail de recherche nous proposons les perspectives suivantes :

- Analyse de l'extrait dichlorométhanique par chromatographie en phase liquide à haute performance couplée au spectrophotomètre de masse afin de connaitre la nature chimique des molécules responsables de l'activité antibactérienne ;
- Réalisation des tests de cytotoxicité in vivo en vue d'une valorisation pharmaceutique ;
- Tester l'effet d'autres solvants organiques sur l'activité antibactérienne ;
- Enfin, étudier l'effet de l'extrait dichlorométhanique sur des bactéries isolées du milieu hospitalier.

Références bibliographiques

- Adams NM (1994).** Common seaweeds of New Zealand. Christchurch: Canterbury University Press.
- Arisawa M, Hayashi K, Nikaido T, Koike K, Fujita D, Nunomura N, Tanaka M, Sazaki T. (1997).** Screening of some Marine organism extracts for cAMP phosphodiesterase inhibition, cytotoxicity and antiviral activity against HSV- 1. International Journal of pharmacognosy 35 (1): 6-11.
- Bakus, GJ., Targett, NM., Schulte, B. (1986)** Chemical ecology of marine organisms, an overview, *J. Chem. Eco.* 12, 951-987.
- 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 and Biology, P:398.
- Ballesteros E, Martin D, Uriz MJ, (1992).** Biological activity of extracts from some Mediterranean macrophytes. *Botanica Marina* 35: 481-485.
- Bansemir, A., Blume , M., Schroder, S., Lindequist, U. (2006).** Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against bacteria. *Aquaculture* 2006, 252,79-84.
- Becerra Celis G.P. (2009).** Proposition de stratégies de commande pour la culture de microalgues dans un photobioréacteur continu. Thèse de Doctorat, Ecole supérieure d'électricité, Gif-sur-Yvette (France).
- Ben HadjKhlifa A et Kheder M. (2010).** Epidémiologie des souches de Klebsiella spp. Uropathogène productrices de β -lactamases spectre élargi dans un hôpital universitaire tunisien. *Pathologie biologique*, N°60, p1-5.
- Bendahou M., Nenyouchef M., Benkhada D., ELISSA Costa J. (2007).** Influence of the processes extraction on essential oil of *Origanum glandulosum*. *Journal of applied sciences*, Vol 8 p1152-1157.
- Bentaher Chaima ., Benyahia Merwa. (2015).** Etude de l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antibactérienne d'algue marine rouge *Asparagopsis armata*.
- Bhakuni DS, and Silva M. (1974).** Biodynamic substances from Marine Flora. *Botanica Marina* 17: 40-51.
- Bielecki, P., Glik, J., Kawecki, M. & Martins dos Santos, V. A. (2008).** Towards understanding *Pseudomonas aeruginosa* burn wound infections by profiling gene expression. *Biotechnol Lett* 30,777-790.
- Blunt JW, Copp BR, Munro MH, Northcote PT, Prinsep MR. (2006).** Marine natural products. *Natural Products Reports* 22: 15-61.
- Blunt JW, Copp RB, Hu WP, Munro MH, Northcote PT, Prinsep MR. (2008).** Marine natural products. *Natural Products Reports* 25: 35-94.
- Blunt JW, Copp RB, Hu WP, Munro MH, Northcote PT, Prinsep MR. (2009).** Marine natural products. *Natural Products Reports* 26: 170-244
- Bodey, G. P., Bolivar, R., Fainstein, V. & Jadeja, L. (1983).** Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Infect Dis* 5, 279-313.
- Branski, L. K., Al-Mousawi, A., Rivero, H., Jeschke, M. G., Sanford, A. P. & Herndon, D. N. (2009).** Emerging Infections in Burns. *Surg Infect (Larchmt)* 10, 389-397.
- Cabioc'h J., Floc'h J.-Y., LE TOQUIN A., Boudouresque C.-F., Meinesz A., Verlaque . (1992).** *M. Guide des algues des mers d'Europe : Manche/Atlantique.* [s.l.] : [s.n.].
- Cacamesse S., R. Azzolina, G. Rurnari, M. Gormaci, S. Grasso. (1980).** Antimicrobial and antiviral activities of extracts from Mediterranean algae, *Bot. Mar.* 23 -285-288.
- Carek, P. J., Dickerson, L. M. & Sack, J. L. (2001).** Diagnosis and management of osteomyelitis. *Am Fam Physician* 63, 2413-20.
- Carpentier M Appere V., Saliou P., de Tinteniach A., Floche H., LeGall F., Cosse M.(2012).** Outbreak of expanded spectrum β -lactamases producing Klebsiella

- pneumoniae in intensive care unit. Médecine et Maladies infectieuses, N°42,P501-509.
- Chakraborty, K., Lipton, AP., Raj, RP., Vijayan., KK. (2010).** Antibacterial labdane diterpenoids of *Ulva fasciata* Delile from southwestern coast of the Indian Peninsula, Food Chem. 119,2010,1399-1408.
- Chojnacka, K ., Agnieszka, S., Zuzanna, W., Lukasz, T. (2012).** Biologically active Compounds in Seaweeds extracts – the Prospects for the Application. The Open Conference Proceeding Journal. 3: p20-28.
- Chopin,T.,(1997).** Marine biodiversity monitoring.Protocol for monitoring of seaweeds. Environment Canada,Ecological monitoring and Assessment Network. Ottawa,40p.
- Chouder N. (2006).** Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionnels sains. Thèse de magister en médecines vétérinaires. Université Mentouri Constantine. Algérie, P 26.28.29.
- Cormaci M. et Furnari G. (2005).** Guida alle alghe dell'Area Marina Protetta'' Isole Ciclopi''. Area Marina Protetta Isole Ciclopi. P. 10.
- Croxen, M. A., and B. B. Finlay. (2010).** Molecular mechanisms of *Escherichia coli*
- Cumashi A.I., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L., Tinari N., Morozevich G.E., Berman A.E., Bilan M.I., Usov A.I., Ustyuzhanina N.E., Grachev A.A., Sanderson C.J., Kelly M., Rabinovich G.A., tacobelli S., Nifantiev N.E.,(2007).** A comparative study of the antiinflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activitiesof nine différent fucoidans from brown seaweeds. Glycobiology.7, 541- 542.
- Darcy-Vrillon B., (1993).** Nutritionai aspects of the developing USC of marine macroalgae for the human food industry. In! Journal Food Sciences Nutrition, 44 (1 p. 1/4). S23 S35.
- D'Argenio, D. A., Gallagher, L. A., Berg, C. A. & Manoil, C. (2001).** *Drosophila* as a model host for *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Bacteriol* 183, 1466-1471.
- Davriese L.A., Vancnnayt M., Balle M., DeGraf E., Snouwaert C., Clleenwerk I., Dawyot P., Swincs J., Decoste A., Haesebrouck F.(2005).** *Staphylococcus pseudodintemedius* SP; acoagulase positive species from animals. Enternational journa of systematic and evolutionary microbiology, N°55, P1569-1573.
- Dawczynski, C., Schubert, R., Jahreis, G. (2007).** Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. Food Chem. 103, 891- 899. human food industry. In! Journal Food Sciences Nutrition, 44 (1 p. 1/4). S23 S35
- Dawes, C.J., Mathieson, A.C. (2008).** The Seaweeds of Florida. University Press of Florida, Gainesville.
- De Oliveira, M.N., Ponte Freitas, A.L., Urano Carvalho, A.F., Tavares Sampaio,T.M.,** defense, *J. Chem. Ecol.* 28, , 1971-1985.
- Dominique B., Dominique D., Patrick D., Marie-Christine. (2005).** Algues et alimentation animale, Algo rythme. 3.
- Dos Santos Amorim R. (2012).** Antimicrobial effect of a crude sulfated polysaccharide from the red Seaweed *Gracilaria ornata*. Brazilian Archives of Biolo and Technology, 55(2).171-181.
- Doukani Amine., Taibaoui Kadidja. (2015).** Contribution à l'étude du pouvoir antibactérien de l'extrait d'algue marine rouge *Asparagopsis armata*.
- Duraffourd C., Dhervicourt L. et Laparaz J.C. (1990).** Examen de laboratoire galémique, Eléments thérapeutiques synergiques, T.1.2éme édition, Masson, Paris, p.10.
- El-Omari, F., A.Mouradi, D. Lamri, D. lamrioui, M. Hadji and Th. (2013).** Givernaud croissance et capacité reproductive de *Gymnogongrus patens*(Rhodopyceae, Gigartinale) de la cote atlantique marocaine. Afrique Science. 09(1) (2013) 102-119.

- Engel, S., Jensen, P R., Fenical. (2002).** W. Chemical ecology of marine microbial *Escherichia coli* strains. *J Clin Microbiol* 43:66-73.
- Etahiri S., A. El Kouri, V. Bultel-Ponce, M. Guyot, O. ASsobhei. (2007).** Antibacterial bromophenol from the marine red alga *Pterosiphonia complanata*, *Natural Product communication* 2 749-752.
- Etahiri S., V. Bultel- Ponce, O. Assobhei. (2004).** Une nouvelle molécule à activité antibiotique à partir de l'algue rouge *Pterosiphonia complanata*, Brevet Marocain N° 27732.
- Etahiri S., V. bultel-poncé, C. Caux, M. Guyot. (2001).** New bromoditerpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*, *Journal of Natural Products*. 64(1-2) (2001) 1024-1027.
- Farid, Y., M.CHENNAOUI, O. ASSOBBHEI,S.ETAHIRI. (2011).** Evaluation de l'effet de lieu de récolte des algues marines des cotes atlantiques marocaines sur l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire Laboratoire de Biothecnologies Marine et de l'environnement(BIOMARE), Université Chouaib Doukkali.
- FAO. (2004).** La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture, SOFIA: 114-115-116.
- Farias,D.F., Alves Teixeira, D.I., Gouveia,S.T., Gomes Pereira, J. and De Castro Catanho de Sena. M.M. (2009).** Nutritive and non-nutritive attributes of washed-up seaweeds from the coast of Ceará, Brazil. *Food Chem*. 115, 254-259.
- Feldmann J, Feldman G. (1939).** Sur le development des carpospores et l'alternance de générations de *Asparagopsis armata* Harvey. *Compte rendu Hebd des Séances l'Académie des Sci Parie* 208:1420 -1422.
- Fleurence F., Kaas R. (1999).** Les algues marines : une source méconnue de protéines végétales. *Equinoxe*.56, 12-7.
- Findly, J.A., Patil, D.A. (1986).** Antibacterial constituents of the red alga *cystoclonium purpureum*, *Phytochemistry*. 25,1986,548-550.
- Freter, R., H. Brickner, J. Fekete, M. M. Vickerman, and K. E. Carey. (1983).** Survival and implantation of *Escherichia coli* in the intestinal tract. *Infect Immun* 39:686-703.
- Garbary D. (1987)** A critique of traditional approaches to seaweed distribution in light of the development of vicariance biogeography. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* 41:235-244.
- Gao, S.H., Li, CS., Proksch, P., Gui B. (2011).** Penicisteroides A and B, antifungal and cytotoxic polyoxygenated steroids from the marine alga-derived endophytic Fungus *penicillium chrysogenum* QUEN- 24S. *Bioorg. Med Chem. Lett*.21 : 2894-2897.
- Garon-Lardiere, S. (2004).** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Université De Bretagne Occidentale.
- Guiry MD, Dawes CJ. (1992)** Daylength, temperature and nutrient control of tetrasporogenesis in *Asparagopsis armata* (Rhodophyta). *J Exp Mar Biol Ecol*, 158:197-217
- Harvey WHH. (1854).** Some Account of the Marine Botany of the Colony of Western Australia. The Transactions of the Royal Irish Academy. Royal Irish Academy, Vol. 22. pp. 525-566.
- Hodgson LM. (1984).** Antimicrobial and antineoplastic activity in some South florida seaweed's. *Botanica Marina* 27: 387- 390.
- Hortense, F. (2011).** Les applications et la toxicité des algues marines. *Thèse de doctorat en pharmacie*, Université de Limoges. France.
- Johnson, J. R., and T. A. Russo. (2005)** c. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol* 295:383-404.

- Julie P., Danielle L., Daniel M. (2010).** Algues, filières du futur Livre Turquoise. Adebioiitech. 163.
- Julie, P. (2011)** Julie PERSON [Trimatec] Livre turquoise, Algues, filières **du futur** Édition Adebioitech Romainville 182p.
- Kannan, RRR., Manoj G. Kulkarni, Wendy A. S., Johannes Van Staden. (2014).** Bioactive Metabolites and value-Added Products from Marine Macroalgae. University of Kwa Zulu-Natal Pietermaritzburg. P : 423-454.
- Kaper, J. B., J. P. Nataro, and H. L. T. Mobley. (2004).** Pathogenic *Escherichia coli*. Nat. Rev. Microbiol. 2:123-140.
- Kassis-Chikhani N. (2012).** *Klebsiella pneumonia* pathogène nosocomiale résistance et virulence. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie Paris 6, P190.
- Kilian M, Steiner U, Krebs B, Junge H, Schmiedeknecht, G. and Hain R. (2000).** TZB24® *Bacillus subtilis* - mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality Pflanzenschutz-nachrichten Bayer, Applied and Environmental Microbiology.
- Kim, D.H. (1970).** Economically important seaweeds in Chile-I/Gracilais. Bot. Mar. 13, 140-162.
- Ktari L., M. Guyot. (1999)** A cytotoxic oxysterol from the marine algae *Padina pavonica*, Journal of Applied Phycology, 11 (1999) 511-513.
- Kubaneck, J., Jensen, PR., Keifer PA., Sullards, MC., Collins, DO., Fenical, W. (2003).** Seaweed resistance to microbial attack, a targeted chemical defense against marine fungi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 100, , 6916-6921.
- Lahaye M. (1991).** Marine algae as source of fibers: determination of soluble and insoluble dietary fibre content in some sea-vegetables. Journal Sciences Food Agricol. 54 et 587-94.
- Leclerc V. (2010).** (Floc'h J.-Y. *Les secrets des algues*. [s.l.] : [s.n.], (Carnets de sciences, ISSN 2110-2228).
- Levine, M. M., and R. Edelman. (1984).** Enteropathogenic *Escherichia coli* of classic serotypes associated with infant diarrhea: epidemiology and pathogenesis. Epidemiol Rev 6:31-51.
- Levine, M.M. (Nataro, J.P., Karch, H., Baldini, M.M., Kaper, J.B., Black, R.E., O'Brien, A.D. (1985).** The diarrheal response of humans to some classic serotypes of enteropathogenic *Escherichia coli* is dependent on a plasmid encoding an enteroadhesiveness factor. Journal of Infectious Diseases 152, 550-559.
- Li, Y.X et Kim, SK. (2011).** Utilization of seaweeds derived ingredients as potential antioxidant and functional ingredients in the *Food industry*: An Overview. 20(6), 1461-1466.
- Littler, D. S., Littler, M. M. (2000)** Caribbean Reef Plants. Offshore Graphics, Washington.
- Lyczak, J. B., Cannon, C. L. & Pier, G. B. (2000).** Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbes Infect* 2, 1051-1060.
- Mabeau, S., Fleurence, J. (1993).** Seaweed in food products: Biochemical and nutritional aspects. Trends Food Sci Tech. 4, 103-107. marine seaweeds. Aquacultural Engineering, (32). 11-41.
- Memory H. (2006).** Biologie Module 1, Diversité des algues et des plantes: 45.
- Michel C. (2000).** Algues-opéron. Biologie Module 1, Diversité des algues et des Plantes.
- Mineur F, Davies AJ, Maggs CA, Verlaque M, Johnson MP. (2010)** Fronts, jumps and secondary introductions suggested as different invasion patterns in marine species, with an increase in spread rates over time. Proc Biol Sci 277:2693-701.
- Mokady, D., U. Gophna, and E. Z. Ron. (2005).** Extensive gene diversity in septicemic.

- Moujahid, A., B. Bencharki, L., Hilali, A., Bagri, L., Najim. (2004).** Activités antibactérienne et antifongique des extraits d'algues marines d'origine marocaine. *N Engl J Med.* (1998) ; Lowy FD *Staphylococcus aureus* infections. 339 : 520-32.
- Naegelé E. et Naegelé A. 1967.** Les algues. Ed. Presses universitaires de France. Paris, P : 127.
- Nedjai S., Barguiga A., Djahmi L., Zerouali K., Dekhil M., Timimouni M. (2011).** prevalence and characterization of expanded spectrum β -lactamases in KES group bacteria, in Algeria. *Medicine et maladies infectieuses*, N°42, P20-29.
- Ní Chualáin F, Maggs CA, Saunders GW, Guiry MD. (2004)** the invasive genus *Asparagopsis* (Bonnemaisoniaceae, Rhodophyta): molecular systematics, morphology, and ecophysiology of *Falkenbergia* isolates. *J Phycol* 40:1112-1126.
- Noemi Salvador., Amelia Gomez garret., Luca Iavelli., Maria Antonia Ribera. (2007).** Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Laboratori de Botanica, Facultat de Farmacia, Universitat de Barcelona.*
- Noziah, M.H., Ching, Ch.Y. (2000).** Nutritional composition of edible seaweed. *Gracilaria changgi*. *Food Chemistry*. 68,69-76.
- Oh, KB., Lee, JH., Chung, SC., Shin, J., Shin, H.J., Kim, H.K., Lee, H.S. (2008).** Antimicrobial activities of the bromophenols from the red alga *Odonthalia corymbifera* and some synthetic derivatives, *Bioorgan. Med. Chem. Lett.* 18,2008,104-108.
- 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.
- Parry J.M., Turnbull P.C.B. et Gibson J.R. (1983).** A Colour Atlas of *Bacillus* Species. Wolfe Medical Publications. Ltd, London.
- pathogenicity. *Nat. Rev. Microbiol.* 8:26-38.
- 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.
- Paul, V.J., Puglisi, M.P. (2004).** Chemical mediation of interactions among marine organisms, *Nat Prod Rep.* 2, , 189-209.
- Pelmont J. 1993.** Bactéries et environnement (adaptation physiologique). Presses Universitaires de Grenoble, P897.
- Pérez, R. (1997).** Ces algues qui nous entourent, Conception actuelle, Rôle dans la biosphère, utilisations, culture, aquaculture. Ifremer. 266p.
- Pilly E. (2008).** Maladies infectieuses et tropicales. 21 ed.,
- Praud A. (1994).** Isolement, caractérisation structurale et analyse de nouveaux métabolites d'algues méditerranéennes appartenant aux genres *Cystoseira* et *Lyngbya*. Thèse. Doc. Sien. Spectro. physico-Chimie Structurale. Univ. Aix-Marseille, France: 186.
- Pukatzki, S., Kessin, R. H. & Mekalanos, J. J. (2002).** The human pathogen *Pseudomonas aeruginosa* utilizes conserved virulence pathways to infect the social amoeba *Dictyostelium discoideum*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 3159-3164.
- Rahme, L. G., Stevens, E. J., Wolfort, S. F., Shao, J., Tompkins, R. G. & Ausubel, F. M. (1995).** Common virulence factors for bacterial pathogenicity in plants and animals. *Science* 268, 899-1902.
- Rajeev KJ. and Xu Z. (2004).** Biomedical compounds from marine organisms. *Marine Drug* 2: 123 -146.
- Ramade F. (2009).** "Eléments d'écologie appliquée", 4ème édition, Edition Dunod, pp 689.
- Ramade, A. (2009).** Eléments d'écologie appliquée, 4ème édition, Edition Dunod, 689 p.
- Raud, P. (2003).** Etude de la diversité génétique des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrice de la bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), isolé au C.H.U de Nantes, de 1990 à 2001. Thèse de doctorat en microbiologie. Université de Nantes, France.

- Reichelt J. L., M. A. Borowitzka. (1984)** antimicrobial activity from marine algae: result of a large screening programme, *hydrobiol.* 116/117 158-168.
- Reviers, B. (2002).** BIOLOGIE ET PHYLOGENIE DES ALGUES, Tome 2 : EMBRANCHEMENT, ed. Belin Sup., 255p, 352p.
- Rivard-Sirois C. (2005).** Les algues. 732.
- Rorrer G.L., Cheney D.P., (2004).** Bioprocess engineering of cell and tissue cultures for marine seaweeds. *Aquacultural Engineering*, (32). 11-41.
- Rosenthal, V. D., Udawadia, F. E., Muñoz, H. J., Erben, N., Higuera, F., Abidi, K., Medeiros, E. A., Fernández Maldonado, E., Kanj, S. S., Gikas, A., Barnett, A. G. & Graves, N.; the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). (2011).** Time-dependent analysis of extra length of stay and mortality due to ventilator-associated pneumonia in intensive-care units of ten limited-resources countries: findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). *Epidemiol Infect* 15, 17.
- Russo, T. A., and J. R. Johnson. (2000).** Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *J. Infect. Dis.* 181:1753-4.
- Sanchez-Machado, D.I., López-Cervantes, J., López-Hernandez, J. and Paseiro Losada, P. (2004).** Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chem.* 85, 439- 444.
- Sanchez-Machado, D.I., Lopez-Hernandez, P., Paseiro-Losada, P., Lopez-Cervantes, J. (2004).** An HPLC method for the quantification of sterols in edible seaweeds *Biomedical Chromatography*, 18, 183–190.
- Sathya, R., Kanaga, N., Sankar, P., Jeeva, S. (2013).** Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsska) C. Agardh. *Arabian journal of chemistry*. In press. DOI: 10.2016/j.arabjc.2013.09.0399.
- Siddiqui, S., Shyum, S.B.N., Usmanhane, K., Shameel, M. (1993).** Antibacterial activity and fatty acid composition of the extract from *Hypnea musciformis* (Gigartinales, Rhodophyta), *Pak.J. Pharm. Sci.* 6, 1993, 45-51.
- Smyrniotopoulos, V., Vagias, C., Rahman, MM., Gibbons, S., Roussis, V. (2008).** Brominated diterpenes with antibacterial activity from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*, *J. Nat. Prod.* 71(8), 2008, 1386-1392.
- Sonenshein, A.L., Hoch, J.A., and Losick, R. (2002)** *Bacillus subtilis and other Gram-Positive bacteria. Biochemistry, physiology and molecular genetic.*
- Srinivasan B.V., Vaidaynathan 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.
- Stenors 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.
- Struve C., Stahelhut SG., Krogfelt KA et Reisner A.(2012).** Biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae.
- Sumi Y. (2009).** Microalgae Pioneering the Future -Application and Utilization, Life Science Research Unit, quarterly review No.34.
- Susete Pinteus., Celso Alves., Hugo Monteiro., Ernesto Arau, jo., Andre Horta., Rui Pedrosa. (2015).** *World J Microbial Biotechnol* (2015). *Asparopsis armata* and *Sphaerococcus coronopifolius* as a natural source of antimicrobial compounds.
- Taylor, W. R. (1957).** Marine algae of the northeastern coast of North America. University of Michigan Press, Ann Arbor..
- Taylor, W. R. (1960).** Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas. University of Michigan Press, Ann Arbor.

- Vairappan, C.S., Suzki, M., Ishii, T., Abe, T., Masuda, M. (2008).** Antibacterial activity of halogenated sesquiterpens from Malaysian Laurencia spp, *Phytochemistry*. 69,2008, 2490-2494.
- Van den Hoek, C., Mann, D. G. & Jahns, H. M. (1995).** *Algae : An introduction to phycology* : Cambridge University Press. pp. 623.
- Viguerie N., Millet L., Avizou S., (2002).** Regulation of human adipocyte gene expression by thyroid hormone. *Journal Clin Endocrinol Metab*, 87(2). 630-4.
- Vitkauskienė, A., Skrodenienė, E., Dambrauskienė, A., Macas, A. & Sakalauskas, R. (2010).** *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: resistance to antibiotics, risk factors, and patient mortality. *Medicina (Kaunas)* 46, 490-495.
- Watanabe F., Takenaka S., Katsura H., (1999).** Dried green and purple lavers (None) contain substantial amounts of biologically active vitamin B12 but less of dietary iodine relative to other edible seaweeds. *Journal Agriculture Food Che*. 47et 2341-3.
- Wen, Z., Johnson, M. B. (2009).** Microalgae as a feedstock for biofuel production, Virginia Cooperative Extension Publication pp: 442-886.
- Wijesinghe, W.A.J.P ., Jeon, You-jin.(2012).** Enzyme-assistant extraction (EAE) of bioactive components: A useful approach for recovery of industrially important metabolites from seaweeds: A review. *Fitoterapia* 83: 6-12p.
- Wong, K.H., Cheung, P.C.K., (2000).** Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds Part Iproximate composition, amino acid profiles and some physico-chemical properties. *Food Chem*. 71, 475- 482.
- Wright A. D., G. M. Konight, C. K. Angerhofer, P. Greenidge, A. Linden, R (1997).** Desqueroxfandez, Anti-malarial activity: the search for marine-derived natural products with selective anti-malarial activity, *Journal of Natural Products*. 59 710-716.
- Xu, N., Fan, X., Yan, X., Li, X., Niu, R., Tseng, CK. (2003).** Antibacterial bromophenols from the marine red algae *Rhodomela confervoides*, *Phytochemistry*. 62,2..3, 1221-1224.
- Yan X., Chuda Y., Suzuki M., (1999).** Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, common edible seaweed. *Biosci Biolechnol Biochem*, (63). 605-7.
- Zimmerman S.B., Schwartz C.D., Monaghan R.L., Pleak B.A., Weissberger B., Gilfillan E.C., Mochales S., Hernandez S., Currie S.A., Tejera E. et Stapley E.O. (1987).** Difficidin and oxydifficidin : novel broad spectrum antibacterial antibiotics produced by *Bacillus subtilis*. *J. Antibiotics* ,40(12) : 1677-1681.

Annexes

Composition de différents milieux utilisés

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

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

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

الخلاصة: تم في هذا العمل تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص ثنائي كلورو ميثان من الطحالب البحرية الحمراء *Asparagopsis Armata* بواسطة تقنيتين من تقنيات MIC في وسط صلب مولر هينتون MIC .

المستخلص ثنائي كلورو ميثان يمنع نمو البكتيريا المسببة لأمراض الإنسان سلبية الغرام (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) (MIC mg/puit = 0.14) (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) بأقطار تثبيط تصل إلى 37 mm . أكثر فعالية ضد البكتيريا موجبة الغرام.

وتشير قيم التراكيز الأدنى المضادة للبكتيريا MIC *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, (MIC mg/puit = 0.14) *Escherichia coli* أكثر حساسية (مع المستخلص ثنائي كلورو ميثان) بينما *Pseudomonas aeruginosa* هي السلالات البكتيرية الأكثر مقاومة (MIC mg/puit = 0.8 و 2.66). (MIC mg/puit = 2.66).

الطحالب البحرية الحمراء *Asparagopsis armata* يمكن استغلالها كمصدر للعوامل المضادة للبكتيريا التي يمكن استخدامها في مجال المستحضرات الصيدلانية لعلاج MIC الإلتهابات.

الكلمات المفتاحية: *Asparagopsis Armata* ثنائي كلورو ميثان، بكتيريا التراكيز MIC mg/puit = 0.14، 0.8 و 2.66، للبكتيريا MIC .

Résumé : Dans ce travail, l'activité antibactérienne de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* a été évaluée par deux techniques de diffusion sur milieu solide Muller-Hinton Agar.

L'extrait dichlorométhanique inhibe la croissance des bactéries pathogènes pour l'homme Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*), et Gram positif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) avec des diamètres d'inhibitions qui peuvent atteindre 37 mm. L'extrait algal est plus actif sur les bactéries à Gram positif.

Les valeurs de CMI indiquent que *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (CMI mg/puits = 0.14) sont sensibles (à l'extrait dichlorométhanique tandis que *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* sont les souches bactériennes les plus résistantes (CMI mg/puits = 0.8 et 2.66, respectivement).

L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* peut être valorisée comme source d'agents antibactériens qui peuvent être utilisés dans le domaine pharmaceutique pour le traitement des infections nosocomiales.

Mots clés : *Asparagopsis armata*, extrait dichlorométhanique, antibactérienne, CMI.

Abstract: In this work, the antibacterial activity of the dichloromethane extract of the red marine alga *Asparagopsis armata* was evaluated by two techniques of diffusion on solid medium Muller-Hinton Agar.

The dichloromethane extract inhibits the growth of pathogenic bacteria in Gram-negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*), and Gram-positive (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) with inhibition diameters up to 37 mm. The algal extract is more active on Gram-positive bacteria.

MIC values indicate that *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* (MIC mg / well = 0.14) are sensitive to dichloromethane extract while *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* are the most resistant bacterial strains (MIC mg / well = 0.8 and 2.66, respectively).

The red marine alga *Asparagopsis armata* can be recovered as a source of antibacterial agents which can be used in the pharmaceutical field for the treatment of nosocomial infections.

Keywords: *Asparagopsis armata*, dichloromethane extract, antibacterial, CMI.