

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

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

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

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Microbiologie Appliquée*

### THEME

---

Etude de l'effet de l'extrait dichlorométhane de l'algue  
marine rouge *Asparagopsis armata* sur *Staphylococcus*  
*aureus* résistante à la méthicilline (SARM)

---

Présenté par :

M<sup>lle</sup>. REGUE Namira

Devant le jury :

Président : M. Benaceur Farouk  
Rapporteur : M. Gouzi Hicham  
Examineur : M. Chetetha Mohamed

Université Amar Télidji-Laghouat  
Université Amar Télidji-Laghouat  
Université Amar Télidji-Laghouat

Soutenu publiquement le, 22 Juin 2019



## *Remerciements*

Nous remercions tout d'abord, celui qui nous apprend le savoir et à qui nous devons la parfaite reconnaissance : ALLAH

Je tiens également à remercier mon encadreur Monsieur Gouzi Hicham d'avoir dirigé ce travail et pour sa disponibilité et ses conseils.

Mes remerciements s'adressent à Monsieur Benaceur Farouk d'avoir accepté de présider mon jury et aussi Monsieur Chetitha Mohammed d'avoir évalué ce travail.

Je remercie mes parents pour leur amour leur soutien moral dans tous les moments de doute. Ce travail est aussi l'expression de votre réussite.

Afin de n'oublier personne, nous remercions tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

## **Dédicace**

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien morale et source de joie et de bonheur celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père «Ahmed »*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, maman « Kaltoum ».*

*A les deuxième mes parons pour moi « Hamza » et « Halima ».*

*A ma chère marie la personne qui m'ont toujours aidé et encouragé, « Abdeldjalil ».*

*A ma sœur « Wafa » et mes frères « Oussama, Aymen »*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, « souad ,Abdelmonaim, Hadjaissa »*

*Je dédie ce travail dont le grand plaisir à Chacun par son nom, qui avec elles nous avons partagé les moments les plus Difficiles dans la réalisation de cette étude.*

*Je tiens également à associer à cette œuvre tous mes collègues de microbiologie applique promotion 2018/2019 que j'ai eu le plaisir de côtoyer pendant cette période de formation*

*A toute personne qui a participé de près ou loin*

*A tous mes enseignants de département de biologie de l'université de Laghouat*

**Namira**

# Sommaire

---

Dédicace.....	I
Remerciements.....	II
Sommaire.....	III
Liste des figures .....	IV
Liste des Abréviations .....	V
Liste des tableaux .....	VI
Introduction.....	1

---

## *Synthèse bibliographique.*

---

### **Chapitre 01 : STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTANT A LA METICILLINE**

1. Staphylococcus aureus MRSA.....	3
1.1 Historique.....	3
1.2 Définition.....	3
1.3. Classification des staphylocoque .....	4
1.4 Les caractères bactériologiques.....	4
1.4.1 Morphologie .....	4
1.4.2 Cultureux.....	5
1.4.3 Caractères biochimiques et métaboliques des staphylocoques.....	6
1.5. Habitat.....	6.
1.6 Facteurs de virulence et physiopathologie .....	6
1.7 Mécanismes de résistance et sensibilité aux antibiotiques.....	6
1.7.1 Mécanisme de résistance.....	6
1.8 Sensibilité aux antibiotiques .....	7
1. Les $\beta$ -lactamines.....	7
2. Les glycoprotéines.....	7
3. Les autres familles.....	7.

# Sommaire

---

2 .Généralités sur les algues.....	7
2.1 Définition.....	7
2.2 Structure des algues.....	8
2. 2.1 Les macroalgues.....	8
2.2.2 Les microalgues.....	.8
2.3 Composition des algues.....	8
2.4 Condition de vie.....	9
2.5 Reproduction des algues.....	9
2.6 Grandes groupes des algues.....	9
2.6.1 Les algues vertes (Chlorophycées).....	10.
2.6.2 Les algues brunes (Phéophycées).....	10
2.6.3 Les algues rouges (Rhodophycées).....	11
2.6.4 Cyanophycées (algues bleues).....	11
2.7 Classification .....	11
2.8 Algue marine bio-indicateur écologique.....	12
2.9 Rôle économique des algues.....	12
2.10 Principales utilisations.....	13
2.10.1 Utilisation alimentaire.....	13
2.10.2 Utilisation industrielle.....	13.
2.10.3 Utilisation agricole.....	13.
2.10.4 Utilisations médicale et pharmaceutique.....	14
2.11 Le genre <i>Asparagopsis armata</i> .....	14
2.11.1 Description.....	14
2.11.2 Caractéristiques d'identification.....	15
2.11.3 Habitat et éléments d'identification sur le terrain .....	15
2.11.4 Utilisation.....	15
2.11.5 Taxonomie .....	15
2.11.6 Reproduction.....	16

# Sommaire

---

2.11.7 Cytologie.....	17
-----------------------	----

## Chapitre 2 : Matériels et méthodes

I. Matériels .....	19
I.1 Matériel biologique .....	19
I.2 Matériel chimique.....	19
2. Méthode .....	20
2.1 Préparation de l'extrait algal .....	20
2.2 Antibiogramme .....	20
2.3 Evaluation de l'activité anti-staphylococcique de l'extrait algal .....	20
2.3.1 Méthode des puits .....	20
2.3.2 Méthode des disques .....	21
2.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	21

## Partie 2. Résultat et discussions

1. Sensibilité <i>S. aureus</i> aux antibiotiques .....	22
2. Effet de l'extrait dichlorométhanique d' <i>Asparagopsis armata</i> sur <i>S. aureus</i> (SARM)...	23
3 Evaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	24
Conclusion.....	25
Référence .....	26

## Liste des figures :

Figure	Titre	Page
<b>01</b>	schéma représentatif de MRSA sous microscope optique	<b>3</b>
<b>02</b>	morphologie de MRSA	<b>5</b>
<b>03</b>	Micro-algues	<b>8</b>
<b>04</b>	algues vertes	<b>10</b>
<b>05</b>	<i>Asparagopsis armata</i>	<b>15</b>
<b>06</b>	Cycle de reproduction <i>asparagopsis armata</i>	<b>17</b>
<b>07</b>	Ramification du thalle chez <i>Asparagopsis armata</i>	<b>17</b>
<b>08</b>	Station de la récolte de l'algue rouge marine <i>Asparagopsis armata</i> (Wilaya de Mostaganem ; Salamandre) (Google maps, 2016).	<b>19</b>
<b>09</b>	L'algue rouge marine <i>Asparagopsis armata</i> .	<b>19</b>
<b>10</b>	résultat de l'effet des extraits d' <i>asparagopsis armata</i> et de différente concentration sur la souche par la méthode de puits	<b>23</b>

**Liste des abréviations :**

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>
µl	Microlitre
ATCC	American Type Culture Collection
CMI	Concentration minimale inhibitrice
FOX	Cefoxitine 30 µg
MH	Müeller –Hinton.
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistante à la méthicilline
OX	Oxacilline
S.a	<i>Staphylococcus aureus</i>
SXT	Trimethoprim-Sulfamethoxazole 25 µg

**Liste des tableaux :**

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	classification des algues rouge	<b>11</b>
<b>02</b>	Résultats de l'effet de quelques antibiotiques sur Staphylococcus aureus MRSA	<b>22</b>

## Abstract

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) are increasingly drug-resistant, and thus there is great need for new therapeutics to treat *S. aureus* infections. Attention has focused on potential utility of natural products, such as extracts of marine macroalgae, as a source of novel antimicrobial compounds. The main objective of this present work was to evaluate the antibacterial properties of dichloromethane extract of *Asparagopsis armata* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using well diffusion methods. The antibiogram pattern show that *S. aureus* was resistant to penicillin but more sensitive to trimethoprim-sulfamethoxazole. The dichloromethane extract of *Asaragopsis armata* at 9 mg/mL showed a highest inhibition zone diameter of 37 mm using agar well diffusion method. The lowest minimal inhibitory concentration of the dichloromethane extract was 3.12 mg/mL. Therefore, the red marine algae can be used a natural source of new antibiotic agent to treat infections caused by *S. aureus*.

**Keywords :** *Staphylococcus aureus*, MRSA, antibacterial, dichloromethane, *Asparagopsis armata*, CMI.

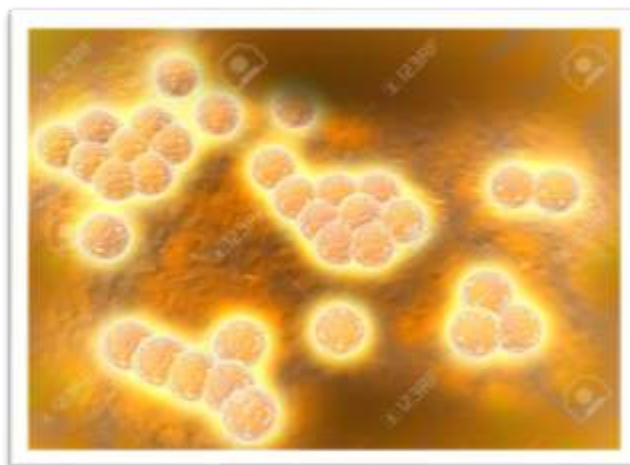
## **1. Staphylococcus aureus MRSA**

### **1.1 Historique**

PASTEUR a observé, en 1879 dans des pus de furoncle et d'ostéomyélites« un organisme unique, formé de petits points sphériques, réunis par couple, rarement par quatre, mais très fréquemment associés en petit amas». Les Staphylocoques, qu'il venait de décrire sont de cocci à Gram positif très répandus dans la nature (sol, eau, air) et responsables d'un grand nombre d'infections chez l'homme et l'animal. Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement, telles que la chaleur, la sécheresse ou la salinité de l'eau. Si l'on ajoute à cela la facilité avec laquelle les staphylocoques deviennent résistants aux agents antibactériens, l'on percevra la variété et la complexité des propriétés de ce genre bactérien.

### **1.2 Définition**

Le *Staphylococcus aureus* est un pathogène commun, responsable d'une variété d'infections habituellement traitées avec des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne comme la pénicilline (Francois 2007). En 1948, presque 60% des souches isolées dans les hôpitaux étaient des souches résistantes à la pénicilline. Pour cette raison, des pénicillines résistantes à l'action de  $\beta$ -lactamases comme la méticilline ont été développées pour traiter ces nouveaux germes. Quelques années après l'introduction de la méthicilline, des souches résistantes ont été rapportées, dues à la présence d'un gène de résistance meca (Grundmann 2006).



**Figure1** : schéma représentatif de MRSA sous microscope optique.

Le MRSA est le pathogène le plus couramment identifié dans les hôpitaux du monde entier. *Staphylococcus aureus* est une bactérie pathogène majeure pour l'Homme et les animaux à sang chaud, tristement célèbre pour son exceptionnelle résistance aux traitements antibiotiques et son implication dans les infections nosocomiales.

### **1.3. Classification des staphylocoques**

La taxonomie du genre *Staphylococcus* a subi plusieurs remaniements successifs grâce au développement du séquençage d'ARNr 16S. On distingue plus de quarante espèces de *Staphylococcus* aujourd'hui. Un certain nombre d'entre elles sont trouvées chez l'Homme, d'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments (viandes, produits laitiers, etc...) (Quinn et al., 2011). Selon l'ouvrage de référence pour la taxonomie bactérienne "bergey's of systematic bacteriology"

Regne:bacteria

Phylum:Firmicutes

Classe: Bacilis

Ordre:Bacillales

Famille: Staphylococcaceae

Genre: Staphylococcus

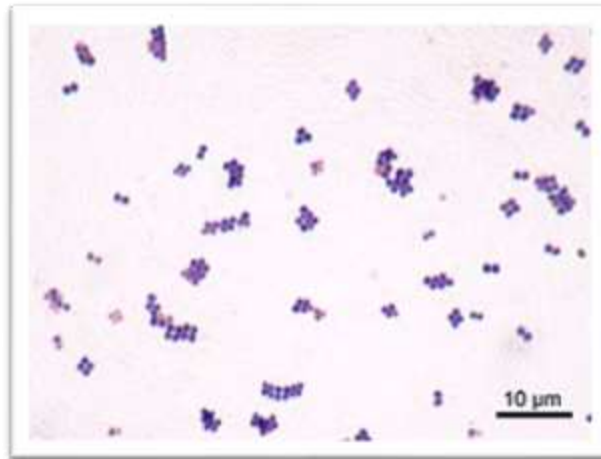
Especie:Staphylococcus aureus (**Brenner et al., 2004**)

Le genre *Staphylococcus* comprend actuellement 34 espèces et 13 sous-espèces qui peuvent être classées en fonction de leur capacité à coaguler le plasma de lapin : on distingue ainsi les espèces à coagulase positive (*S. aureus*) et les espèces à coagulase négative (*S.lentus*, *S.hominis*) (Sutra et al., 1998)

### **1.4. Caractères bacteriologiques**

#### ***1.4.1 Caractères morphologiques***

A l'examen microscopique, les staphylocoques se présentent sous l'aspect de coques en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chaînettes de 3 à 5 éléments positivement colorés au Gram (Fleurette, 1982). Le mode de groupement dit en "grappe" ou en "amas" est plus caractéristique après culture sur un milieu gélosé (Novick, 1990). Sur le plan individuel, ce sont des cocci mesurant 0,7 à 1,2µm), immobiles asporulés, généralement acapsulés ou ayant une faible capacité de synthèse de capsule (Novick Et Fleurette, 1990).



**Figure2 : morphologie de MRSA**

#### ***1.4.2 Caractères cultureux***

Les Staphylocoques sont en général aéro-anaérobie facultatif et poussent sur milieu ordinaire en aérobiose à l'exception de *S. saccharolyticus* et *S. aureus anaerobius* (Courvalin et al., 1985). qui sont donc catalase négative. Certaines souches nécessitent cependant une forte pression en CO<sub>2</sub> pour une croissance optimale ainsi que la présence d'autres métabolites tels que l'hémine ou la ménadione (Kloos et al., 1981). Cependant, certains facteurs de croissance sont indispensables pour la multiplication des staphylocoques ; ce sont la Vitamine B1 et l'acide nicotinique. La température optimale de croissance est de +30 à +45°C avec un maximum à 37°C et le pH varie entre 4,8 à 9,4 avec un optimum à 7,5. En bouillon ordinaire, la culture est rapide et les staphylocoques se multiplient en quelques heures, formant un trouble homogène ou un dépôt (Fleurette, 1982).

En milieu solide, on observe des colonies opaques, régulièrement rondes, lisses, plus ou moins bombées avec un diamètre variant de 1,5 à 4 mm. La plupart des souches produisent alors un pigment doré non diffusible en 24 heures à 37°C, pigment qui sera plus prononcé après 24 à 48 heures de plus à la température ambiante (Novick, 1990). En milieu gélosé au sang, on observe fréquemment une zone claire d'hémolyse (bêta hémolyse) autour des colonies. Ceci est lié au fait que certains staphylocoques, en particulier *S. aureus*, sont susceptibles de synthétiser quatre hémolysines distinctes et variables d'une souche à l'autre, et dont l'activité diffère selon le type d'hématie en cause (Fleurette, 1982).

### **1.4.3 Caractères biochimiques et métaboliques des staphylocoques**

L'étude des différents caractères biochimiques et métaboliques des souches de staphylocoques a permis le développement de galeries d'identification rapides et efficaces, permettant de définir les différents profils biochimiques de souches appartenant à une même espèce (Kloos, 1994).

### **1.5. Habitat**

Ce sont des germes ubiquitaires que l'on peut retrouver dans l'environnement, mais son principal réservoir est l'homme. On le retrouve dans le nez, sur la peau et dans l'intestin. En milieu hospitalier, un malade peut développer une infection due à *Staphylococcus aureus*, de sa propre flore. C'est le principal agent des maladies nosocomiales. On les retrouve aussi dans les aliments (charcuterie, crème glacée). Si la souche est productrice d'entérotoxines, elle peut être à l'origine d'une TIAC.

### **1.6 Facteurs de virulence**

*S. aureus* est un germe pyogène (formation de pus). Sa paroi est constituée d'une microcapsule muqueuse qui empêche la fixation des anticorps et des phagocytes. Elle permet l'adhésion des bactéries aux surfaces. *S. aureus* sécrète une protéine appelée protéine A au peptidoglycane. Elle se lie aux fragments Fc des immunoglobulines. Elle protège la bactérie contre l'opsonisation. Elle est recherchée par des tests d'agglutination sur lame. Elle possède aussi un récepteur au fibrinogène qui se fixe au fibrinogène et joue un rôle, important, dans la colonisation et l'invasion des tissus. Il est capable de se fixer sur le collagène. Il est détecté par la même méthode que pour la protéine A

*S. aureus* sécrète aussi des toxines comme les *hémolysines*, les *leucocidines*, Les *entérotoxines*, les *exfoliatrices*, et les *TSST* (Sutra et al., 1998).

### **1.7 Mécanismes de résistance et sensibilité aux antibiotiques**

#### **1.7.1 Mécanisme de résistance**

Les antibiotiques bêta-lactames (par exemple, les pénicillines et les céphalosporines) endommagent les bactéries en inactivant les protéines de liaison à la pénicilline (PBP), des enzymes essentielles à l'assemblage de la paroi cellulaire bactérienne. On trouve quatre PBP natifs dans les staphylocoques; Tous les quatre peuvent être inactivés par ces antibiotiques. En raison de la paroi cellulaire affaiblie, les bactéries traitées deviennent fragiles sur le plan osmotique et sont facilement lysées. La protéine bêta-lactamase staphylococcique, qui clive la structure cyclique du bêta-lactame, confère une résistance à la pénicilline mais pas aux pénicillines semi-synthétiques telles que la méthicilline, l'oxacilline ou la cloxacilline.

## **1.8 Sensibilité aux antibiotiques**

### **1. Les $\beta$ -lactamines :**

Les *Staphylococcus aureus* sauvages sont très sensibles à la Pénicilline G, mais ces souches sont rares. Les souches résistantes produisent une pénicillinase. On a donc fabriqué des Pénicillines M qui sont insensibles à cette pénicillinase. Cette résistance est qualifiée d'hétérogène (une partie de la population exprime, in vitro, cette résistance). Au laboratoire, on utilise des techniques particulières pour mettre en évidence cette résistance hétérogène. La résistance a une localisation chromosomique, c'est-à-dire que les SARM possèdent un gène *mecA* qui code pour une PLP2 qui a une très faible affinité pour les  $\beta$ -lactamines. Lorsqu'un staphylocoque est résistant à la Méthicilline, on doit le rendre résistant à toutes les Pénicillines et les Céphalosporines. On peut rechercher les pénicillinases grâce à une technique chromogène, le test Céfinase. Les pénicillinases sont des enzymes inductibles. Pour déterminer la résistance hétérogène, pour cela on place un disque de Céfoxitine sur l'antibiogramme normal à 37°C.

### **2. Les glycoprotéines :**

La Vancomycine et la Teichoplanine sont des antibiotiques utilisés pour les septicémies et les endocardites.

### **3. Les autres familles :**

L'acide fusidique et la Rifampicine sont utilisés pour le traitement des staphylococcies. On emploie des associations d'antibiotiques pour éviter les résistances.

## **2. Généralités sur les algues**

### **2.1 Définition**

Les algues sont des plantes primitives non fleurissantes sans racine, ni tige et ni feuilles (Sathya, 2013). Elles sont des Thallophytes chlorophylliens se développant dans l'eau ou dans des milieux très humides. Bien que surtout abondantes dans les eaux des mers, et les eaux douces (lacs et mares), et des eaux thermales, on en trouve également sur les rochers humides et sur la terre. Exceptionnellement, elles peuvent être endophytes de tissus animaux ou végétaux (Feldmann, 1963) et même dans la neige. Elles se nourrissent directement à partir de leur surface cellulaire et prélèvent les éléments nutritifs dans le milieu qui les baigne ou les humecte (Cabioc'h, 2006). Elles sont plus rares en milieu aérien.

Elles constituent en particulier une riche frange de végétation sur le littoral. Parmi ces Algues côtières se rencontrent des espèces dont les thalles atteignent de grandes dimensions et un degré élevé d'organisation pluricellulaire (Roland, 2008). L'air, la lumière et des sels dissous sont, en plus de l'eau, nécessaires à leur développement.

Les algues constituent en réalité un vaste ensemble hétérogène d'embranchements très distincts les uns des autres et n'ayant entre eux que peu de caractères communs (Feldmann, 1963).

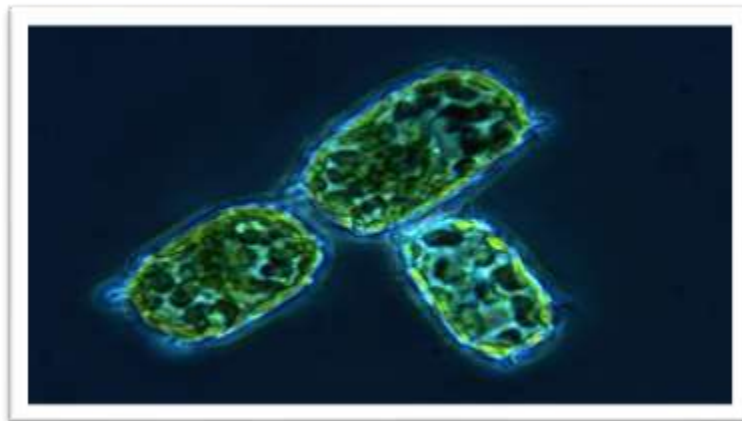
## **2.2 Structure des algues**

### **2.2.1 Les macroalgues**

Les macroalgues sont constituées à leur base par des crampons, leurs permettant de se fixer sur un support. Elles absorbent les nutriments par toute la surface du thalle en contact avec l'eau. Les crampons sont surmontés d'un pédoncule de longueur et de diamètre variable, le stipe. L'algue se termine par une fronde qui peut être découpée en filaments, cordons ou lanières (Hortense, 2011).

### **2.2.2 Les microalgues**

La cellule unique des microalgues unicellulaires est capable d'assurer toutes les fonctions. Leur taille est d'une dizaine de microns et la plupart d'entre elles sont adaptées à la flottaison. De nombreuses espèces possèdent un ou plusieurs flagelles mobiles qui leur confèrent une véritable aptitude à la nage (Hortense, 2011).



**Figure 3: Micro-algues (Person, 2011)**

## **2.3 Composition des algues**

Les algues marines ont une grande valeur biologique due à leurs richesses en :

**Fibres** : de 33 à 61 % (Lahaye, 1991).

**Calcium** : Les algues sont une source abondante de ce minéral qui peut être jusqu'à 34% de la matière sèche (Frestedt *et al.*, 2008)

**Vitamines** : surtout la vitamine B12 à des teneurs assez importantes contrairement aux plantes terrestres (Watanabe *et al.*, 1999).

**Iode** : la teneur en iode des algues brunes est exceptionnelle et peut atteindre jusqu'à 14296 mg/kg de matière sèche (Maro *et al.*, 1999).

**Protéines** : Les phycobiliprotéines sont les principaux des algues rouges (phycoérythrine) et bleus (phycocyanine), possèdent des propriétés antioxydantes utilisées dans les traitements de cancers et maladies inflammatoires liées au stress oxydatif ( González *et al.*, 1999 ; Pàdula et Boiteux, 1999 ; Remirez *et al.*, 1999).

**Polyphénols** : appelés phlorotanins chez les algues, ils sont présents surtout dans les phéophycées et montrent une activité antioxydante dans les tests *in vitro* (Shibata *et al.*, 2008).

**Caroténoïdes** : des puissants antioxydants, les algues brunes en sont riches en plus des fucoxanthine,  $\beta$  carotène et violaxanthine. De nombreuses études ont démontré l'activité antioxydante des caroténoïdes et leurs effets préventifs contre les pathogènes liées au stress oxydatifs (Yan *et al.*, 1999).

## **2.4 Condition de vie**

Il y a des algues pratiquement partout sur notre planète. Très peu exigeantes, il leur suffit d'un brin de lumière et d'un soupçon d'eau pour se développer. La plupart des algues vivent en effet dans les océans, elles y représentent plus de 90% des végétaux. Les grandes algues vivent plutôt le long des côtes rocheuses, depuis la zone balayée par les marées jusqu'à 150 voire 200 mètre de profondeur (Leclerc, 2010).

## **2.5 Reproduction des algues**

Dans de très nombreux cas, la reproduction des algues s'effectue par multiplication végétative. Il s'agit d'une multiplication asexuée qui consiste soit en la division d'une cellule isolée (cas des algues bleues), soit en une fragmentation de thalle aboutissant à la formation de plusieurs organismes identiques. Elle est souvent réalisée par la formation de cellules spécialisées : les spores. Les algues eucaryotes réalisent en plus une reproduction sexuée au cours de laquelle l'union de deux cellules reproductrices, ou gamètes, produit un oeuf, ou zygote. La reproduction des algues se déroule ainsi selon une alternance de phases de reproduction asexuée assurée par les thalles (sporophytes), et de phases de reproduction sexuée, assurée par des thalles producteurs de gamètes (gamétophytes). Aux cycles d'alternance de génération plus ou moins variés caractérisant leur reproduction, se superpose également une alternance de phases (de  $n$  à  $2n$  chromosomes). (Garon-Lardiere. S, 2004).

## **2.6 Grandes groupes des algues**

Selon leur pigmentation, les algues sont divisées en trois groupes ; les chlorophycées, les rhodophycées et les phéophycées (Mohamed *et al.*, 2012).

### **2.6.1 Les algues vertes (Chlorophycées)**



**Figure 4 : algues vertes**

Les Chlorophyta, ainsi que leur nom l'indique, sont en principe algues de couleur verte, celle-ci étant due à la nature de l'équipement des pigmentaires contenus dans leurs chloroplastes. Cette couleur verte est quelque fois masquée par la présence d'inclusions cellulaires supplémentaires chargées de carotènes. C'est ainsi que quelques-uns présentent une couleur rouge. Sous l'effet d'une forte insolation, d'autres peuvent devenir jaunâtres. Les Algues vertes se définissent par certains caractères fondamentaux liés à la structure des plastes et à leurs particularités biochimiques (présence de chlorophylles a et b, de carotènes et de xanthophylles, élaboration d'un amidon intraplastidial que l'on met aisément en évidence à l'aide d'un colorant à base d'iode, le Lugol). (J. Cabioch *et al.*, 2006).

Il existe environ 7500 espèces d'algues vertes réparties dans plusieurs classes, parmi lesquelles : les Chlorophyceae, les Ulvophyceae et Charophyceae. Ces classes diffèrent par la disposition et l'ancrage des flagelles, par la chronologie de la disposition des fuseaux à la télophase, et par la manière dont se produit la cytotélière après la division nucléaire (Nabors, 2009). 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.

### **2.6.2 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. S, 2004). Les plastes bruns de ces algues, qui comptent

quelques 1500 espèces, contiennent trois chlorophylles (a, c1 et c2) plus ou moins masquées par divers pigments jaunes et orangés, les parois des cellules sont riches en un polysaccharide particulier, l'acide alginique, présent sous forme d'alginate.

### **2.6.3 Les algues rouges (Rhodophycées)**

Les Rhodophytes ou algues rouges forment un groupe très diversifié. Ces algues doivent leur couleur à la présence de plastides 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. S, 2004).

### **2.6.4 Cyanophycées (algues bleues)**

Elles possèdent des pigments surnuméraires bleus (Phycocyanines) et rouges (Phycoérythrines) qui masquent la chlorophylle. En dépit de leur nom ancien d'algues bleues, elles sont rarement bleues mais plus souvent rouges, vertes avec des reflets bleutés, violets, brunes, jaunes ou oranges. La plupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse voire gluante en raison des mucilages qu'elles sécrètent (Ainane, 2011).

## **2.7 Classification**

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

**Tableau 01** : classification des algues rouge

	TERMES SCIENTIFIQUES	TERMES EN FRANÇAIS	DESCRIPTIF
<b>Embranchement</b>	Rhodobionta / Rhodophyta	Rhodobiontes	Algues rouges, pour la plupart marines.

	TERMES SCIENTIFIQUES	TERMES EN FRANÇAIS	DESRIPTIF
<b>Sous-embranchement</b>	Eurhodophytina		
<b>Classe</b>	Florideophyceae	Floridéophycées	Thalle élaboré formé de fins filaments branchés ou en lames.
<b>Sous-classe</b>	Rhodymeniophycidae	Rhodyméniophycidées	
<b>Ordre</b>	Bonnemaisoniales	Bonnemaisoniales	
<b>Famille</b>	Bonnemaisoniaceae	Bonnemaisoniacées	
<b>Genre</b>	Asparagopsis		
<b>Espèce</b>	Armata		

## 2.8 Algue marine bio-indicateur écologique

Comme indicateurs écologiques, les algues présentent plusieurs avantages intrinsèques : elles sont benthiques, et donc peuvent servir à caractériser les conditions, parce qu'elles agissent comme bioaccumulateurs en concentrant les composées à des teneurs dépassant de plusieurs ordre de grandeur celles de l'eau de mer ambiante, les algues ont été utilisées pour surveiller dans les eaux côtières, la pollution par des métaux lourds, hydrocarbones, pesticides, PCB, enduits préservatifs, éléments radioactifs, nutriments (eutrophisation) et nombreux autres composés (Belmokhtar Mansouria. 2012).

## 2.9 Rôle économique des algues

On estime que sur notre planète, l'activité photosynthétique est à plus de 90% le fait des algues marines, constituant ainsi notre principale source d'oxygène. De nombreuses populations des régions côtières utilisent quotidiennement les algues marines pour leur alimentation. La propriété physiologique des algues qui consiste à concentrer dans leurs cellules des oligo-éléments contenus dans l'eau est désormais utilisée à des fins diététiques ou en thalassothérapie. Mais l'exploitation industrielle des algues est essentiellement liée à l'extraction de leurs phycocolloïdes, polysaccharides constituant la paroi des cellules, aux propriétés texturantes. On distingue ainsi les agars et les carraghénanes, extraits des algues rouges, des alginates, extraits des algues brunes.

Les principales applications de ces phycocolloïdes sont dans le domaine de l'agroalimentaire, mais également dans des domaines variés tels que celui de la cosmétologie ou encore de l'industrie des peintures. (Garon-Lardiere. S, 2004).

## **2.10 Principales utilisations**

Les algues sont exploitées industriellement tant dans l'alimentation que dans l'agriculture, la médecine et toutes les formes d'industrie (Naegelé et Naegelé, 1967). La quantité d'algues produites annuellement par culture ou récoltées dans le monde est de l'ordre de neuf millions de tonnes d'algues fraîches. (Marfaing et Lerat, 2007; Dhargalkat et Verlecar, 2009).

### **2.10.1 Utilisation alimentaire**

Les algues sont consommées en Asie depuis l'aube de l'humanité (Burtin, 2003; Marfaing et Lerat, 2007). En Occident, cette consommation directe d'algues est plus récente. Des études épidémiologiques menées en Asie mettent en évidence une incidence plus faible des cancers du sein, du côlon et de la prostate liée à la consommation régulière d'algues. Ces résultats seraient en faveur du rôle possible de facteurs nutritionnels multiples, en particulier liés à la présence simultanée dans les algues de différents nutriments comme les protéines, polysaccharides plus ou moins sulfatés, minéraux et oligoéléments mais également métabolites secondaires tels que les polyphénols, caroténoïdes, stérols et bêtaines (Marfaing et Lerat, 2007).

### **2.10.2 Utilisation industrielle**

Si les algues sont utilisées à l'état naturel comme produit final pour l'alimentation et l'agriculture, c'est surtout leurs dérivés qui ont pris un immense intérêt industriel: ce sont les alginates, l'agar-agar et les carraghénanes (Naegelé et Naegelé, 1967). La forte affinité de ces polysaccharides à l'eau, les a qualifiés d'hydrocolloïdes (Venugopal, 2009). Ils sont extraits de différentes macroalgues rouges et brunes (Naegelé et Naegelé, 1967; Barsanti et Gualtieri, 2006; Venugopal, 2009). Ces hydrocolloïdes jouent un rôle important comme agents gélifiants, épaississants, texturants, stabilisants et émulsifiants (Venugopal, 2009).

### **2.10.3 Utilisation agricole**

Une autre utilisation intéressante des algues, pratiquée de longue date et fort répandue est celle du goémon, comme engrais formé principalement d'algues brunes: les Fucus et les Laminaires (Naegelé et Naegelé, 1967). La biodisponibilité de quantités adéquates de potassium, d'azote, d'hormones végétales et de micronutriments, la teneur élevée en matière organique, notamment en fibre, ainsi que la forme soluble dans l'eau des éléments minéraux et oligo-éléments dans les algues font d'elles un excellent engrais (Venugopal, 2009). La pulvérisation d'engrais liquide sur les plantes, technique récemment adoptée, a augmenté

l'efficacité d'absorption des nutriments par les plantes (par les feuilles) dans les 10 à 15 minutes de son application (Dhargalkar et Pereira, 2005). Cette méthode montre des résultats positifs en termes de santé des plantes, l'augmentation des taux de croissance, la résistance aux ravageurs et des rendements plus élevés de 25 à 30% (Dhargalkar et Pereira, 2005; Venugopal, 2009)

#### **2.10.4 Utilisations médicale et pharmaceutique**

Les pays maritimes ont eu recours aux algues comme vermifuge, anesthésique et pommade pour le traitement de la toux, des blessures, la goutte et le goitre (Dhargalkar et Pereira, 2005). 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. En pharmacologie, il est employé comme agent émulsionnant dans l'homogénéisation des huiles et comme l'agar, c'est un hémostatique efficace. (Naegelé et Naegelé, 1967).

#### **2.11 Le genre *Asparagopsis***

*Asparagopsis* est un genre d'algue rouge (*Rhodophyta*) appartenant à la classe des Florideophyceae et à la famille des Bonnemaisoniaceae. Le genre est connu pour son incertitude taxonomique et sa nomenclature dynamique. En effet, au sein du genre, huit espèces nominales ont été répertoriées parmi lesquelles quatre sont actuellement acceptées : *A. armata* Harvey, *A. taxiformis* (Delile) Trevisan de Saint-Léon, *A. sanfordiana* f. *amplissima* Setchell & Gardner et *A. svedelii* W.R.Taylor. (Guiry *et al.*, 2014).

L'algue sur laquelle nos recherches ont porté, *Asparagopsis armata*, appartient à la classe des algues rouges (*Rhodophyta*). Ont été reconnus depuis la fin des années 1800 pour être une riche source d'halogènes, en particulier le brome et l'iode. *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). (Laury Dijoux, 2014).

##### **2.11.1 Description**

Belles touffes, rose pale, au contour pyramidal, atteignant parfois 30 cm de haut. Axe, cylindriques à la base, diversement ramifiés; le thalle porte de très nombreux ramules, surtout dans sa partie supérieure, ce qui lui donne un aspect caractéristique d'*Asparagus*. Mais surtout présence de rameaux épineux, en forme de harpon, de quelques centimètres de long. Les

thalles sont des gamétophytes; cystocarpes ovoïdes de 2 mm de diamètres. Les tetrasporophytes très différents morphologiquement étaient désignés autrefois sous le nom de «*Falkenbergia rufolanosa* ». C'est une espèce annuelle, infralittorale, photophile, épiphyte sur d'autres algues, originaire d'Australie et de Nouvelle Zélande (Boudouresque et *al.*, 2006 ; J. Cabioch et *al.*, 2006).



**Figure 5:** *Asparagopsis armata* (source : [www.nonnativespecies.org](http://www.nonnativespecies.org)).

### **2.11.2 Caractéristiques d'identification**

Algue rouge caractérisée par deux stades morphologiquement différents au cours de son développement, à savoir un stade gamétophyte et un stade tétrasporophyte. Ses principaux stolons nus et cylindriques (mesurant 1 mm de large, 200 mm de long) sont ramifiés de manière irrégulière et présentent des frondes touffues. Ses rameaux inférieurs sont longs et munis de crochets en forme de harpon.

### **2.11.3 Habitat et éléments d'identification sur le terrain**

Au stade gamétophyte, elle est de couleur pâle rouge violacé et elle connaît une dégénération rapide hors de l'eau, devenant nettement orange. Elle se développe en tant qu'algue épiphyte fixée sur d'autres espèces d'algues, surtout la *Corallina sp.* Au stade tétrasporophyte, c'est une algue rouge brunâtre ramifiée et filamenteuse, formant des touffes cotonneuses denses de 15 mm de diamètre. Généralement, cette algue se développe sur les fonds rocheux au niveau de l'étage infralittoral, de la surface jusqu'à 40 m de profondeur.

### **2.11.4 Utilisation**

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

### **2.11.5 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

bangiophycées, et les floridéophycées dont l'organisation végétative (Van den hoek et al., 1995) est différente, les premières pouvant être qualifiées de « primitives ». *Asparagopsis armata* Harvey (Harvey, 1855), est une algue rouge marine pluricellulaire, dont la taxonomie complète est suivante :

Division : Rhodophyta

Classe : Rhodophyceae

Sous-classe : Florideophyceae

Ordre : Bonnemaisoniales

Famille : Bonnemaisoniaceae

Genre : *Asparagopsis*

Espèce : *Asparagopsis armata*

### **2.11.6 Reproduction**

Dans le cas d'*Asparagopsis*, la reproduction se fait suivant un cycle trigénétiq (alternance de trois générations) : La première génération est sexuée, et se présente sous forme de gamétophytes à n chromosomes (haploïdes). 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 trigénétiq hétéromorphe, le tétrasporophyte étant très différent des gamétophytes. L'algue *Asparagopsis armata* représente la phase gamétophyte d'*Asparagopsis*, alors que *Falkenbergia rufonala* est la génération tétrasporophytique de cette algue. Ces deux générations sont dissemblables morphologiquement, ce qui est à de leur appellation différente, puisque pendant longtemps elles ont été prises pour des espèces distinctes. (Garon-Lardiere. S, 2004).

En fin, il existe un autre type de propagation de l'espèce *Asparagopsis*. Il s'agit de la multiplication végétative qui consiste à générer, à partir d'une partie du thalle qui se détache et se fixe ailleurs, un nouvel individu. (Garon-Lardiere. S, 2004).

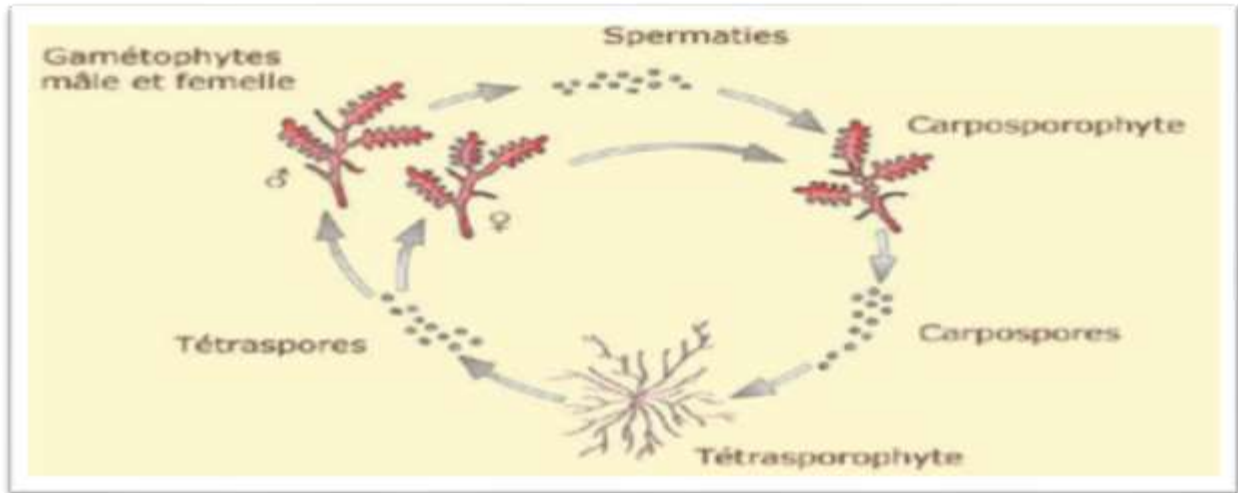


Figure 6: Cycle de reproduction *Asparagopsis armata* (source : site web : [www.mer-littoral.org](http://www.mer-littoral.org)).

### 2.11.7 Cytologie

*Asparagopsis armata*, phase gamétophytique d'*Asparagopsis*, est une espèce annuelle. Cette algue photophile se développe au niveau d'infralittoral supérieur, entre la surface et dix mètres de profondeur, dans des zone modérément battus (mode abrité) (Cabioc'h *et al.*, 1992). Elle est le plus souvent épiphyte d'autre algue, et colonise facilement les substrats artificiels. (Garon-Lardiere. S, 2004). Son thalle se présente sous forme de touffes roses au contour pyramidal de 15 à 30 cm de long. Il est ramifié et est constitué par une alternance de rameaux longs à croissance indéfinie, de rameaux courts, encore appelés brachyblastes, et de rameaux épineux, en forme de « harpon », par l'intermédiaire desquels les frondes d'*Asparagopsis armata* s'accrochent aux algues environnantes. Ces deux derniers rameaux ont une croissance limitée (Figure 2).

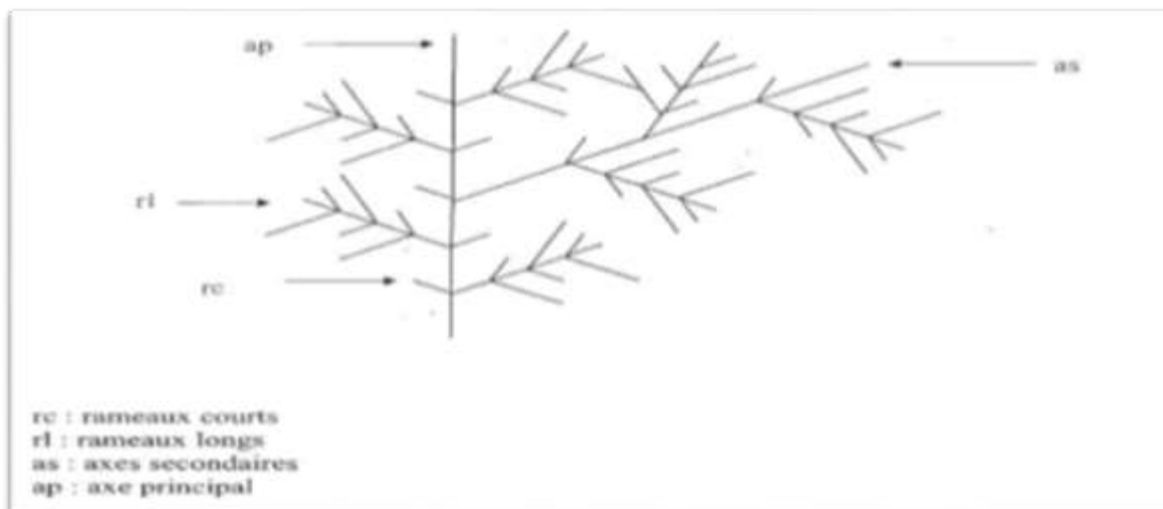


Figure 7 : Ramification du thalle chez *Asparagopsis armata* (Bonin et Hawkes1987).

Les rameaux longs naissent à partir d'une cellule initiale terminale (apicale) qui génère une file de cellule axiale très allongées constituant le filament axial. La structure du thalle uni axiale est donc formée par un tube creux, constitué par ce filament axial et limité par un cortex cellulaire dense (Feldmann et Feldmann, 1939). La ramification des rameaux longs est générée par le cloisonnement oblique des cellules axiales, donnant naissance à deux cellules péri axiales opposées. Chacune va alors générer un filament axial latéral qui va se développer soit en rameaux courts pour l'un, soit en un nouveau rameau long à croissance indéterminée ou axe secondaire pour l'autre, ce dernier ressemblant à l'axe principal (Bonin et Hawkes, 1987; Feldmann et Feldmann, 1939 Womersley, 1996). Les rameaux courts (brachyblastes), quant à eux, ont une structure plus simple (Feldmann et Feldmann, 1942). Ils sont formés d'une seule file de cellules qui se divisent ensuite par des cloisons parallèles à l'axe du rameau pour donner naissance à une cellule centrale étroite (axe du brachyblaste) et à trois cellules plus large entourant le filament axial et constituant les cellules péricentrales. Ces dernières ne sont pas disposées toutes les trois au même niveau, Mais alternent régulièrement. Enfin, les rameaux épineux sont généralement disposés par paire à la base des axes secondaires, et sont produits par des cellules axiales successives. Leur structure est identique à celle des rameaux longs, mais ils sont assimilés à des rameaux à croissance définie.

## 1. Matériels

### 1.1 Matériel biologique

L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* a été récoltée en mois de Mars 2019 sur la côte rocheuses de la cote marine de salamandre (position GPS 35°55'04.49 N ; 0°03446.80 E) située à environ 30 m de la wilaya de Mostaganem. Les échantillons d'algue sont transportés au laboratoire dans des sacs en polyéthylène. La photographie de l'espèce d'algue marine récoltée est représentée dans la **photo 01**. La souche bactérienne *Staphylococcus aureus* MRSA (ATCC 443000) est fournie par le laboratoire vétérinaire regional de Laghouat. La souche est conservée dans un tube à gélose et à 4°C.



**Figure 08.** Station de la récolte de l'algue rouge marine *Asparagopsis armata* (Wilaya de Mostaganem ; Salamandre) (Google maps, 2016).

### 1.2 Matériel chimique

La culture de la bactérie *Staphylococcus aureus* MRSA est réalisé dans un milieu Muller-Hinton Agar à pH 7.0 et à 37°C. La préparation de l'inoculum bactérien est faite dans de l'eau physiologique stérile (pH 7.0, NaCl 9 g/L).

Différents antibiotiques sont utilisés pour évaluer la sensibilité de la souche de référence *Staphylococcus aureus* MRSA à savoir : Cefoxitine (FOX : 30 µg), Sulfamethoxazole (SXT : 25µg), gentamycine (Gm : 10 µg), e la pénicilline (Pen 6 µg).



**Figure 9.** L'algue rouge marine *Asparagopsis armata*.

## **2. Méthodes**

### **2.1 Préparation de l'extrait algal**

10 g d'algue marine rouge séchée et broyée sont introduites dans un flacon en verre contenant 100 mL de dichlorométhane.

Après 24 heures d'agitation à température ambiante, le contenu du flacon est filtré deux fois puis le solvant est évaporé à sec à l'aide d'un Rotavapeur réglé à 45°C. Le résidu sec est solubilisé dans un volume de DMSO approprié pour avoir une solution d'extrait algal ayant une concentration finale de 300 g/L qui sera conservé dans un tube en verre placé à 4°C. Le rendement d'extraction (%) est calculé selon la formule suivante :

Le rendement d'extraction (%) est calculé en appliquant la formule suivante :

$$R (\%) = \{(P1 - P0) / E\} \times 100$$

P1 : poids d'extrait après évaporation (g).

P0 : poids vide du ballon (g).

E : poids de la poudre algal (g).

### **2.2 Antibiogramme**

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

La méthode de diffusion à partir d'un puits sur gélose Mueller-Hinton Agar la méthode des disques qui permettent la mise en évidence de l'activité antimicrobienne de l'extrait

La souche microbienne à tester ont été cultivée dans des boîtes de pétri contenant du milieu Mueller-Hinton Agar. Après 24 heures d'incubation à 37°C, un inoculum pour suspension bactérienne d'une densité optique de 0.1 mesurée à 620 nm a été préparé dans l'eau physiologique stérile.

### **2.3 Evaluation de l'activité anti-staphylococcique de l'extrait algal**

#### **2.3.1 Méthode des puits**

L'activité inhibitrice des différents extraits organiques d'*Asparagopsis armata* obtenus est testée par la méthode des puits. Le méthanol 95% est utilisé comme témoin négatif. La lecture des résultats s'effectue en mesurant le diamètre des zones d'inhibition qui se traduit par un halo translucide autour du puits après 24 heures d'incubation à 37°C dans la gélose Mueller-Hinton Agar préalablementensemencée par écouvillonnage avec l'inoculum de bactérie à tester. Les diamètres des zones d'inhibition seront alors mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

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

Dans chaque boîte préparé 2 puits et ajoute 80µl de dilution

### **2.3.2 Méthode des disques**

Avec une suspension microbienne pure fraîchement préparée et ensemencée sur les milieux gélosés. Nous imbibons un disque de papier Wattman stérile N°01 de 6 mm de diamètre avec 100 µl d'extrait puis nous les déposons sur la surface de gélose ensemencée ensuite les incubons l'ensemble pendant 24 heures à 37 C°.

### **2.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La détermination de la CMI de l'extrait algal est effectuée en milieu de culture Muller-Hinton Agar à l'aide de la méthode de diffusion sur puit. Pour cela, 30 µl de l'extrait algal à différentes concentrations est introduite dans des puits de boîte de pétri préalablement ensemencée à l'aide d'une suspension bactérienne à 0.1 D.O<sub>620 nm</sub>.





Une boîte reçoit seulement le DMSO et va servir comme contrôle négatif. Les boîtes de pétri sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures. La CMI est définie comme la plus petite concentration de produit pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible comparativement au témoin sans extrait d'algue. Le diamètre des zones d'inhibition est mesuré à l'aide d'un pied à colisse.

### 1. Sensibilité *S. aureus* aux antibiotiques

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis des antibiotiques. Nous avons pu étudier la sensibilité de la souche de référence *S. aureus* (MRSA) vis-à-vis de quelques antibiotiques. Le tableau (2) regroupe les résultats ainsi obtenus.

D'après le Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (SFM, 2019), nous constatons que *S. aureus* (MRSA) est résistante seulement en présence de la pénicilline mais résistante vis-à-vis des autres antibiotiques testés. Cette résistance s'explique par sa capacité à synthétiser les  $\beta$ -lactamases qui hydrolysent le noyau  $\beta$ -lactamine de l'antibiotique.

**Tableau 2:** Les résultats de l'effet de quelques antibiotiques sur *Staphylococcus aureus* MRSA.

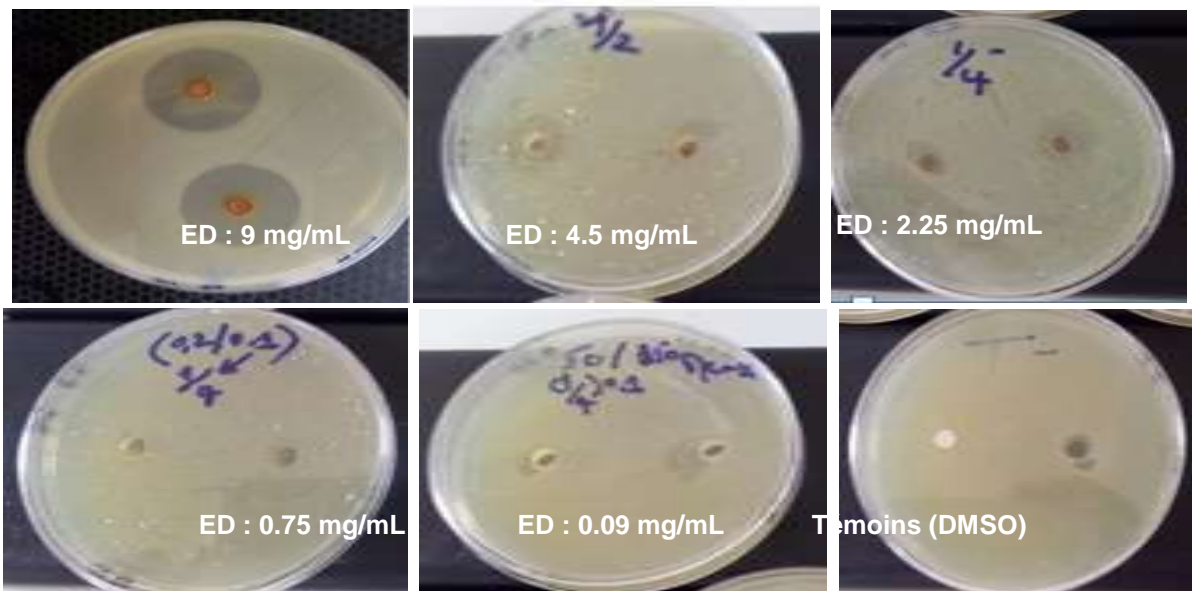
Antibiotique ( $\mu\text{g}/\text{disque}$ )	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Photos	Interprétation
Gmn : 10	26.74 $\pm$ 0.02		S
Pen : 6	6.0 $\pm$ 0.00		R
Sxt : 25	31.49 $\pm$ 0.24		S
Fox : 30	23.10 $\pm$ 1.13		S

## 2. Effet de l'extrait dichlorométhanique d'*Asparagopsis armata* sur *S. aureus* (SARM)

L'effet antibactérien de l'extrait dichlorométhanique d'*Asparagopsis armata* sur la croissance de *S. aureus* (SARM) sur milieu solide a été étudié par la méthode des puits.

D'après la Figure on remarque que l'extrait algal provoque une diminution de la croissance de *S. aureus* (SARM) à partir de 0.09 mg/mL et que le pouvoir antibactérien est proportionnel à la concentration de l'extrait algal dans le milieu de culture.

Des zones d'inhibition comprises entre 10 et 37 mm ont été observées. L'extrait algal exerce une activité anti-staphylococcique significative à 9 mg/mL avec un diamètre d'inhibition le plus élevé (37 mm). Cette activité antibactérienne est relativement similaire par rapport à celle obtenue avec le SXT. Par contre, l'extrait algal a un pouvoir antibactérien plus élevé par rapport aux autres antibiotiques testés.



**Figure 10** : Résultats de l'effet de l'extrait dichlorométhane de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* sur *Staphylococcus aureus* (MRSA) évalué par la méthode de puits.

### **3 Evaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La CMI est définie comme étant la plus basse concentration capable d'empêcher une croissance visible de *Staphylococcus aureus* (MRSA). 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). La valeur de CMI de l'effet de l'extrait dichlorométhane de l'algue rouge *Asparagopsis armata* sur MRSA déterminé sur milieu solide est égale 3.12 mg/mL.

Les algues rouges sont capables de produire des molécules bioactives qui peuvent être utilisées dans le domaine pharmaceutique. Des études ont montré que le genre *Asparagopsis* synthétise des produits naturels divers tels que : les composés halogénés, les méthanes, les cétones, les acétates et les acrylates (Genovese et al., 2009).

D'après Bansemir et al. (2006) ces, molécules peuvent être à l'origine du pouvoir antibiotique de l'extrait dichlorométhane de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata*.

Les avancées sur les nouvelles technologies ont permis de découvrir un arsenal encore plus important sur les propriétés algales. Aujourd'hui les algues marines occupent des habitats très diversifiés sur la surface du globe et surtout elles constituent une extraordinaire diversité. La biodiversité des algues et leurs richesses en molécules bioactives poussent les chercheurs à découvrir leur éventuelles applications biotechnologiques tel que la recherche de nouveaux antibiotiques.

*Staphylococcus aureus* (MRSA) est l'une des souches bactériennes les plus pathogènes rencontrées dans les milieux hospitaliers qui cause la plus part des infections nosocomiales parfois mortelles. Cette bactérie est connue par sa bioresistance vis-à-vis des antibiotiques les plus couramment utilisés dans le traitement des maladies humaines. Pour cela, durant cette étude nous avons pu montrer que le dichlorométhane est un solvant très approprié pour extraire des molécules capables d'inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus* (MRSA).

L'extrait dichlorométhane inhibe de manière significative la croissance de cette bactérie et que son pouvoir antistaphylococcique est corrélé avec sa concentration dans le milieu de culture. On peut suggérer que les molécules responsables de cette activité antibactérienne est de nature hydrophobe vu la polarité faible du solvant d'extraction utilisé.

Afin de compléter cette étude, il serait envisageable de tester l'effet de l'extrait dichlorométhane sur d'autres microorganismes tel que les levures et les champignons pathogènes. De plus, il serait intéressant d'identifier les molécules responsables de cette activité antimicrobienne pour pouvoir les utiliser après comme nouveaux agents thérapeutiques.

□ **Mueller-Hinton agar (M.H.A)**

**Composition :**

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

□ **Eau physiologique**

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

## ملخص.

أصبحت المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين مقاومة للأدوية بشكل متزايد ، لذلك هناك حاجة إلى علاجات جديدة. جذبت المنتجات الطبيعية مثل مقتطفات الطحالب البحرية الانتباه كمصدر لعوامل مضادات الميكروبات الجديدة. كان الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تقييم التأثير باستخدام طرق الانتشار في المواد (MRSA) المضاد للبكتيريا لمستخلص ثنائي كلورو ميثان من نبات الهليون على المكورات العنقودية الذهبية الهلامية. تظهر نتائج المضاد الحيوي أن المكورات العنقودية الذهبية كانت مقاومة للبنسلين ولكنها حساسة لجميع السلفاميثوكسازول. إن مستخلص عند 9 مغ / مل يمارس منطقة تثبيط عالية يبلغ قطرها حوالي 37 مم تم الحصول عليها باستخدام *Asaragopsis armata* ثنائي كلورو ميثان من *Asparagopsis armata* طريقة نشر الأجار مع الأبار. وكان الحد الأدنى لتركيز المثبط 3.12 ملغ / مل. وبالتالي فإن الطحالب الحمراء البحرية *S. aureus* هي مصدر طبيعي واعد لمضادات حيوية جديدة لعلاج الالتهابات التي تسببها

**الكلمات المفتاحية:** المكورات العنقودية الذهبية ، الهليون، مضاد للجراثيم، ثنائي كلورو ميثان، MRSA.CMI

## Résumé.

Les *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) sont de plus en plus résistantes aux médicaments, et par conséquent il est nécessaire de trouver de nouveaux traitements. Les produits naturels tels que les extraits d'algues marines ont attiré l'attention en tant que source de nouveaux agents antimicrobiens. L'objectif principal de ce travail était d'évaluer l'effet antibactérien de l'extrait de dichlorométhane d'*Asparagopsis armata* sur *Staphylococcus aureus* (SARM) en utilisant les méthodes de diffusion en milieu gélos. Les résultats de l'antibiogramme montrent que *S. aureus* était résistante à la pénicilline mais sensible surtout au sulfaméthoxazole. L'extrait de dichlorométhane d'*Asaragopsis armata* à 9 mg/mL exerce une zone d'inhibition élevée d'un diamètre d'environ 37 mm obtenu avec la méthode de diffusion en milieu gélosé avec des puits. La concentration minimale inhibitrice était de 3.12 mg/mL. L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* est donc une source naturelle prometteuse de nouveau antibiotique pour le traitement des infections causée par *S. aureus*.

**Mots clés :** *Staphylococcus aureus*, SARM, antibactérien, dichlorométhane, *Asparagopsis armata*, CMI.

## Abstract.

Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) are increasingly drug-resistant, and thus there is great need for new therapeutics to treat *S. aureus* infections. Attention has focused on potential utility of natural products, such as extracts of marine macroalgae, as a source of novel antimicrobial compounds. The main objective of this present work was to evaluate the antibacterial properties of dichloromethane extract of *Asparagopsis armata* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using well diffusion methods. The antibiogram pattern show that *S. aureus* was resistant to penicillin but more sensitive to trimethoprim-sulfamethoxazole. The dichloromethane extract of *Asaragopsis armata* at 9 mg/mL showed a highest inhibition zone diameter of 37 mm using agar well diffusion method. The lowest minimal inhibitory concentration of the dichloromethane extract was 3.12 mg/mL. Therefore, the red marine algae can be used a natural source of new antibiotic agent to treat infections caused by *S. aureus*.

**Keywords :** *Staphylococcus aureus*, MRSA, antibacterial, dichloromethane, *Asparagopsis armata*, CMI.