

M^{elle}DAHMANI Hanane

Intitulé

Etude du pouvoir antimicrobien des extraits bruts de l'algue Cystoseirastrictade la côte ouest algérienne (plage de Madrid)

Soutenu le : 23 /06/2014 devant le jury composé de :

M^{me} BENGUEDDA W. Maitre de conférences a l'Université de Tlemcen Présidente

M^r REBIAHI S.A. Maitre de conférences à l'Université de Tlemcen Examinateur

M^{me} BELYAGOUBI N. Maitre de conférences à l'Université de Tlemcen Examinatrice

M^r BELYAGOUBIL. Maitre assistant à l'Université de Tlemcen Encadreur

Année Universitaire : 2013-2014

REMERCIEMENTS

Je remercie tous d'abord Dieu qui m'a donné la force et le courage pour réaliser ce travail.

Je tien à exprimer tous mes remerciements à ma mère qui avait souhaité me voir microbiologiste et qui m'a assisté pour continuer mes études.

A mes sœurs Hadjer et Nouría

A mon chère frère Ibrahim

A mon bínôme GEZZEN Abdeldjelil

A mes amí(es) : Asma ,Fouzía ,Mbarka ,Amína, Samía , Nassíma , Fatíma, Asma, Maroí , Houda , Zahíra , Chahra , Zahía ,Nessríne ,Nouría ,Houaría ,Assía ,Bourmama et Belkhír.

A tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

DAHMANI Hanane

Remerciement

Ce travail de recherche a été effectué au Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA) du département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, de l'Université Abou BAKR BELKAID-TLEMCEN, sous la Abou Bekr belkaid-Tlemcen.

En premier, je désire adresser tous mes remerciements au tout puissant DIEU ALLAH qui ma donné la volonté et le courage pour avoir réalisé ce travail.

Mes sincères remerciements sont adressés à monsieur BELYAGOUBI Larbi, Maître assistant au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen encadreur de mon mémoire pour ces encouragements, ces conseils tous au long de la réalisation de ce travail.

Mes sincères remerciements sont adressés:

A mademoiselle BENMAHJOUB Mariam et a mademoiselle ISSAOUI Ghania ,Doctorantes en Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen pour leurs amitié et pour leur aide et soutien et leur présence précieuses à un moment sensible du déroulement de mon mémoire .

Je tiens particulièrement à remercier :

Madame BENGUEDA Wassila., Maître de Conférences au département d'Ecologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen m'avoir fait honneur de présider ce jury.

Monsieur REBIAHI S.A., Maître de Conférences au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de I la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Madame BELYAGOUBI Née BENHAMMOU Nabila., Maître de Conférences au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Mes remerciements sont adressent aussi à Monsieur TABET HELAL M. A., enseignant chercheur au département de science de terre et de l'univers de Tlemcen. Pour ces conseils leurs aides.

Je tien a remercier les membres du Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA), Département de Biologie, Université de Tlemcen.

A tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

SOMMAIRE

Remerciement	I
Résumés	II
Liste des abréviations	III
Liste des tableaux	IV
Liste des figures	V
Liste des photos	VI
Introduction	02
Partie I : Recherche bibliographique	
Chapitre I : Présentation de l'espèce algale	
I. Définition des algues	04
II. Grands groupes des algues	04
III. Utilisation des algues	05
IV. Position taxonomique de la famille des Sargassacées	06
IV.1. Description du genre Cystoseira	07
IV.2. Présentation de l'espèce <i>Cystoseira stricta</i>	07
1. Description	07
2. Habitat	08
3. Cycle de vie	08
4. Espèce réglementée	09
V. Etude chimique du genre Cystoseira	10
Chapitre II : Microorganismes	
Introduction	14
I.Présentation de quelques espèces microbiennes	14
1. Klebsiella pneumoniae	14
2. Escherichia coli	15
3. Micrococcus luteus	15
4. Pseudomonas aeruginosa	16
5. Bacillus cereus	17
6. Staphylococcus aureus	18
7. Candida albicans	18
II. Les antibiotiques	18

Partie II : Matériels et Méthodes

I. Zone d'échantillonnage	21
II. Récolte et préparation des échantillons	22
III. Extraction du produit algal	23
IV. Etude de pouvoir antimicrobien	24
IV.1. Microorganismes utilisés	24
IV.2.Conservation des souches	24
IV.3.Confirmation des souches	24
1. Test de la catalase	24
2. Coloration de Gram	25
IV.4. Réalisation de l'antibiogramme	25
IV.4.1. Liste des antibiotiques utilisés	25
IV.4.2. Milieux utilisés	26
IV.4.3. Préparation de l'inoculum	26
IV.4.4. Ensemencement	26
IV.4.5. Application des disques d'antibiotiques	26
IV.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne	27
IV.5.1Préparation des extraits	27
IV.5.2Milieux des cultures utilisées	27
IV.5.3Pré cultures des bactéries	27
IV.5.4.Méthode de diffusion sur agar (méthode des disques)	27
Partie III : Résultats et discussion	
1. Résultats de la coloration de Gram	29
2. Résultats du test catalase	30
I.Résultats de l'antibiogramme	30
II.Résultats de l'antifongigramme	37
III. Résultats et discussion de la méthode de diffusion sur disques	37
Conclusion	37
Références bibliographiques	38
Annexe	48

Liste des abréviations

°C: Degré Celsius

μl: Microlitre

ATCC: American Type Culture Collection.

BHB: Brain Heart Broth

D.O: densité optique.

DMSO: diméthyl sulfoxyde

g: Gramme

Gram -: Gram négatif

Gram+: Gram positif

H₂O₂: peroxyde d'hydrogène.

HCl: acide chlorhydrique.

mg : Milligramme

MH: Mueller-Hinton

ml: Millilitre

 O_2 : oxygène.

PM: poids moléculaire

trs/min: tours par minute.

UFC: Unité Formant de Colonie

V: Volume

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Aspect générale de <i>Cystoseira stricta</i> d'après Verlaque (1975)
Figure 2: Cycle de vie des espèces du genre Cystoseira (Gómez et al. 2001)09
Figure 3: Différents types de squelettes de méroditerpènes isolés à partir d'algues du genre Cystoseira (Yannick.V, 2010)
Figure 4: Structures chimiques illustrant les six classes de Phlorotannins (Amsler et Fairhead, 2006)
Figure 5 : Défirent types de stérol de Cystoseira stricta (Latrides et al 1983)
Figure 6 : Klebsiella pneumoniae vue en microscope électronique
Figure 7 : Escherichia coli vue en microscope électronique
Figure 8 : Micrococcus luteus vue en microscopie électronique à balayage
Figure 9 : Pseudomonas aeruginosa vue en microscopie électronique à balayage
Figure 10 : Bacillus cerius vus en microscopie électronique
Figure 11 : Staphylococcus aureus vus en microscopie électronique à balayage
Figure 12: Photo de biofilms de <i>Candida albicans</i> au microscope électronique (Grossissement: 10x50)
Figure 13: Carte géographique de la région de récolte (Encarta 2009)
Figure 14 : Diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>E. coli</i> ATCC8739
Figure 15:Diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Klebsiella</i>
pneumoniae ATCC 700603

Figure 16: Diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur
Pseudomonas aeruginosa ATCC27853
Figure 17:Diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur
Staphylococcus aureus ATCC 6538
Figure 18 : Diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Bacillus</i> cereus ATCC10876
Figure 19 : Diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur
Micrococcus luteusATTC9341
Figure 20 : Diamètres des zones d'inhibition des l'extrais d'acétone et l' hexane sur la souche <i>S .aureus</i> ATCC 6538
Figure 21 : Diamètres des zones d'inhibitions des l'extrait acétonique et héxanique sur la
souche B. cereus ATCC10876
Figure 22 :Diamètres des zones d'inhibition des l'extrais d'acétone et l' hexane sur <i>C</i> .
<i>albicans</i> ATCC26790

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Photo de Cystoseira stricta
Photo 2 : Région d'endroit d'échantillonnage
Photo 3 : Cystoseira stricta après le séchage
Photo 4 : Processus de l'évaporation en l'aide d'un évaporateur rotatif
Photo 5 : Coloration de Gram des souches bactériennes testées
Photo 6: L'activité antimicrobienne des extraits acétonique et héxanique sur <i>Staphylococcus</i> aureus ATCC 6538
Photo 7: L'activité antimicrobienne sur <i>Bacillus cereus</i> (ATCC10876)par la méthode des disques des extraits acétonique et héxanique
Photo 8 : L'activité antimicrobienne sur <i>Candida albicans</i> (26790)par la méthode des disques des extraits acétonique et héxanique

LISTE DES TABLEAUX

Tableau1 : Classification des Sargassacees dans l'arbre de la vie (De Reviers, 2003)	06
Tableau 2 : Teneurs maximales et minimales des composés en fonction du mois de l'année	
(Pellegrini, 1971)	10
Tableau 3 : Liste des antibiogrammes testés sur les bactéries et la levure	25
Tableau 4 : Résultats de la catalase	30
Tableau 5 : Interprétation des résultats pour E. coli ATCC8739	31
Tableau 6 : Interprétation des résultats pour Klebsiella pneumoniae ATCC 700603	32
Tableau 7 : Interprétation des pour Pseudomonas aeruginosa ATCC27853	33
Tableau 8 : Interprétation des résultats de la méthode des disques pour Staphylococcus	
aureus ATCC 6538	34
Tableau 9 : Interprétation des résultats de la méthode des disques pour <i>Bacillus cereus</i>	
ATCC10876	35
Tableau 10 : Interprétation des résultats de la méthode des disques pour Micrococcus luteus	
ATTC9341	36

Le milieu marin et les organismes qui l'habitent constituent une source infinie de molécules actives à structure chimique originale (Smit, 2004). Ces composés sont synthétisés par des voies métaboliques différentes de celles observées en milieu terrestre. Parmi les organismes marins, les algues, qui sont le plus souvent fixées sur un substrat, ont élaboré des défenses chimiques pour empêcher leur colonisation par d'autres espèces, y compris les microorganismes (Paul, 1987).

Ces algues occupent une place importante dans le milieu marin d'où leur abondance et leur accessibilité. Ce sont des organismes peu évolués, dépourvus d'armes de défense, qui vivent dans des conditions environnementales et écologiques sévères (pression, salinité, absence de lumière, compétence inter et intra spécifique...). Ces facteurs poussent ces organismes à produire des molécules de défense : ce sont les métabolites secondaires. Ces derniers sont des molécules biologiquement actives et de grandes originalités structurales Rinehart, 1992 ; Tringali, 1997). Ils pourraient agir directement et ayant ainsi moins d'effets secondaires (Stewart et al., 2003).

Dans ce contexte, nous avons étudié les pouvoirs antibactérien et antifongique des extraits bruts acétonique et hexanique de l'algue brune *Cystoseira stricta*, une espèce endémique de la Méditerrané qui été récolté de la côte ouest algérienne (la plage de Madrid).

Les extraits de douze mois allant du mois de Mars 2013 jusqu'au moi de Février 2014 ont été testés contre six souches bactériennes potentiellement pathogènes (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Micrococcus luteus*) et une levure *Candida albicans*.

Ce travail est partagé en trois parties :

- ➤ Une recherche bibliographique comprend des généralités sur l'algue brune *Cystoseira stricta* en appuyant sur la classification, la distribution, la reproduction et leur multiplication dans le premier chapitre. En second chapitre, une présentation de différents microorganismes testés durant notre expérience.
- ➤ Dans la deuxième partie, nous exposons les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'effet des extraits algaux sur des microorganismes pathogènes sélectionnés ;
- ➤ La troisième partie relate l'interprétation et la discussion des résultats obtenus, suivie par une conclusion.

I. Définition des algues

Les algues sont des végétaux, ne possédant ni feuilles, ni tiges, ni racines. Leur corps est un thalle, d'où leur nom de thallophytes (**Ibrahima**, 1995). 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 sont essentiellement aquatiques dans les eaux douces ou marines, et certaines vivent sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes. D'autres au contraire supportent dans les eaux des sources thermales des températures élevées (algues thermophiles). Elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal (**Morere** *et al.*, 2002).

II. Grands groupes des algues

Les algues sont divisées en trois groupes selon leur pigmentation : algues vertes, algues brunes et algues rouges. Chacun de ces groupes est caractérisé par la présence de chlorophylle qui confère la couleur verte aux végétaux. Chez les algues brunes et rouges, les pigments sur numéraires se substituent au vert de la chlorophylle. Il s'agit des xanthophylles et des caroténoïdes (dont la fucoxanthine). Chez les algues rouges, il s'agit des phycoérythrines et phycocyanines (Floc'h et al., 2006).

- o algues vertes ou les Chlorophycées, qui jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux. Elles sont de formes très variées, uni- ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, auxquelles sont associés carotènes et 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 (**Perez, 1997**).
- o algues rouges ou les Rhodophycées : l'association de la phycoérythrine à d'autres pigments chlorophylliens est à l'origine de la coloration rosâtre des plastes de ces algues.

Les Rhodophycées sont des organismes pluricellulaires d'origine marine, elles sont divisées en deux grands groupes, en fonction de leur cycle de reproduction : les Bangiophycées et les Floridéophycées (Guillaume, 2010).

- o algues brunes ou les Phéophycées de structure généralement pluricellulaire et de dimensions très variables, la majorité de ces algues vivent en milieu marin et présentent une couleur brunâtre résultant de l'association de pigments dominants, à savoir la xanthophylle et la fucoxanthine (Guillaume, 2010).
- o Les algues caméléons : ce type des algues utilise le même stratagème que le caméléon pour s'adapter à des variations de lumière. En effet, ces algues sont capables d'ajuster leur composition pigmentaire en fonction de leur environnement. En lumière faible, les algues augmentent le nombre de leurs pigments, les plastes qui les contiennent grossissent, ils vont se déplacer dans les cellules pour rejoindre les endroits les plus exposés à la lumière. En revanche si la lumière est trop intense, les pigments se raréfient, les plastes deviennent plus petits et changent de forme, ils se transforment en sphère et migrent à la base des cellules (Veronique et Jean-Yves, 2010).
- o Les algues peuvent changer de teinte selon la qualité de la lumière. Plus de caroténoïdes, moin de chlorophylle. Les algues vertes peuvent modifier leurs teneurs en chlorophylle b et en caroténoïdes. Les algues brunes, quant à elles, fabriquent plus de fucoxanthine et chlorophylle c à plus grand profondeur (**Veronique et Jean-Yves, 2010**).

III.Utilisation des algues

Les algues ont été utilisées depuis longtemps : au début dans l'alimentation des populations des rivages asiatiques, ou comme engrais en Europe ou encore pour le bétail. Depuis le XVIIIème siècle, l'iode est extrait industriellement des algues au Japon. Les algues ont été et sont encore utilisées à de nombreuses fins (Ainane, 2011).

Agro-alimentaire : Gélose et alginates utilisées comme agents émulsifiants, épaississants,
stabilisants, gélifiants (additifs de E400 à E408), excipients (Hillier, 2008);
☐ Agriculture :utilisées comme engrais ;
☐ Dentisterie : pâtes pour les empreintes dentaires ;
□ Industries chimiques : les frustules (enveloppes externes des diatomées) siliceux, sont
utilisés comme abrasifs, ou isolants phoniques ou thermiques. Les colles, peintures, résines,
caoutchoucs, savons utilisent des produits d'algues (Kornprobst , 2005).

$\hfill \square$ Médecine : en thalassothérapie, on utilise les bains d'algue (algothérapie) pour traiter les
rhumatismes ou certaines affections de l'appareil locomoteur, en chirurgie ou en gynécologie,
on utilise des stipes de laminaires (pour leur propriété à retenir l'eau tout en se dilatant) pour
débrider une plaie ou dilater une voie naturelle (Falshaw et al., 2005);
□ Pharmacie : on utilise les propriétés laxatives ou vermifuges (Hypnea Carragheen),
anticoagulantes (Phyllophora) (Falshaw et al., 2005).

IV. Position taxonomique de la famille des Sargassacées

Les Phéophycées, ou algues brunes, sont classés dans le règne des Chromista. Au sein des Phéophycées, la famille des Sargassacées appartient à l'ordre des Fucales (Cho *et al.*, 2006; Phillips *et al.*, 2008). La classification des Sargassacées au sein des êtres vivants est résumée dans le tableau 1.

Tableau1 : Classification des Sargassacées dans l'arbre de la vie (De Reviers, 2003 ; Cavalier-Smith, 2004 ; Phillips et al., 2008 ; Guiry, 2009).

Domaine	Eucaryote
Règne	Chromista
Sous règne	Chromobiota
Infra –règne	Hétérokonta
Embranchement	Ochrophyta
Infra-embranchement	Marista
Super classe	Fucistia
Classe	Phéophycées
Ordre	Fucales
Famille	Sargassacées
Genre	Cystoseira

La famille Sargassacées possède des représentants dans la quasi-totalité des mers du globe à l'exception des Océans Arctique et Antarctique (**Klervi**, **2009**). Elle comprend 26 genres dont les plus importants sont *Cystophora*, *Cystoseira*, *Sargassum* et *Turbinaria*. Ces genres représentent à eux seuls plus de 90% des espèces de la famille des Sargassacées et près de 85% des espèces de l'ordre des Fucales (**Guiry**, **2010**).

IV.1. Description du genre Cystoseira

Le genre Cystoseira, qui regroupe 51 espèces, est essentiellement représenté dans les eaux froides et tempérées de l'hémisphère nord, et a la mer Méditerranéenne.

Les espèces du genre *Cystoseira* ont été décrites par **Agardh** (**1820**) comme des algues arborescentes, très ramifiées qui peuvent atteindre, pour les plus grandes, plus d'un 1 mètre de hauteur (**Gómez** *et al.*, **2001**).Les ramifications donnent à l'algue un aspect touffu. L'ensemble des espèces du genre *Cystoseira* sont caractérisées par la présence d'un disque basal épais qui les fixe au substrat. Ce disque est d'autant plus développé que l'espèce vit dans une zone agitée.

D'après **Gómez Garreta** *et al.* (2001) ; **Cormaci** *et al.*, (2012) et **Taskin** *et al.*, (2012), les principaux caractères servant à la détermination des espèces sont :

- Plante libre/ attachée (C. barbata / C. foeniculacea)
- Cespiteuse/ axe simple (*C. stricta/ C. barbata*)
- Présence/absence de tophule (C. funkii/ C. brachycarpa var. balearica)
- Présence/absence d'aérocystes (C. usneoides/ C. algeriensis)
- Iridescence (C. stricta/ C. mediterranea, C. elegans)
- Apex lisse/épineux (*C. barbata/ C. crinita*).

IV.2. Présentation de l'espèce Cystoseira stricta

1. Description

Cystoseira stricta est une algue érigée de couleur brune dont les thalles peuvent atteindre 40 cm de hauteur. Cette espèce est fixée au substrat par une base encroûtante étendue, d'où partent plusieurs axes dressés (thalle cespiteux). Ces axes sont cylindriques à sommet épineux à peine saillant et mesurent de 2 à 15 cm de hauteur. Ils produisent des rameaux primaires caducs, cylindriques et souvent sinueux, pouvant atteindre 30 cm de longueur qui portent des rameaux secondaires beaucoup plus courts, disposés irrégulièrement et eux-mêmes divisés. Tous ces rameaux sont couverts de nombreux ramules courts spiniformes assimilés à de petites feuilles (Cabioc'h et al., 2006). Les rameaux primaires, très flexibles, suivent le mouvement des vagues. Lorsqu'ils sont émergés, ils s'étalent sur la roche. Les jeunes rameaux et les extrémités de l'algue ont souvent une iridescence bleu-vert. L'algue est couverte de petites cryptes pilifères dispersées (Delepine et al., 1987).



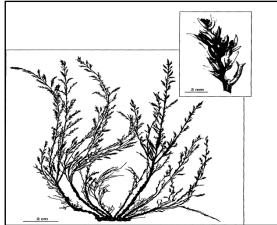


Photo 1 : *Cystoseira stricta*. (Photo prise par Belmahjoub Mariam, 2014).

Figure 1 : Aspect générale de *Cystoseira stricta* d'après **Verlaque** (1975).

2. Habitat

L'espèce *Cystoseira stricta* est principalement localisée en mer Méditerranée, de l'Espagne à la Turquie ainsi que sur les côtes nord-africaines, et en Atlantique nord-est ; elle est d'ailleurs présentée comme espèce protégé (**Guiry**, **2010**).

3. Cycle de vie

L'espèce est hermaphrodite. Les gamètes mâles et femelles sont produits dans de petites cryptes pilifères fertiles (conceptacle) groupées dans la partie terminale renflée des rameaux (réceptacles). Les réceptacles, longs de quelques mm à 2 cm, sont cylindriques, plus ou moins compacts et couverts de ramules épineux. A maturité, les spermatozoïdes puis les oosphères passent à l'extérieur par l'ouverture du conceptacle (ostiole) et la fécondation a lieu dans l'eau (Rodriguez-Prieto et al., 2007).

Les œufs coulent et se collent au substrat dans les 12 heures qui suivent la fécondation, ce qui limite la dispersion de cette espèce et peut expliquer sa vulnérabilité face aux perturbations (faible capacité de recolonisation) (Guern, 1962). Néanmoins, en présence de courants, les thalles fertiles arrachés du substrat peuvent être disséminés et contribuer à la propagation de cette espèce. (Coleman et Brawley, 2005).

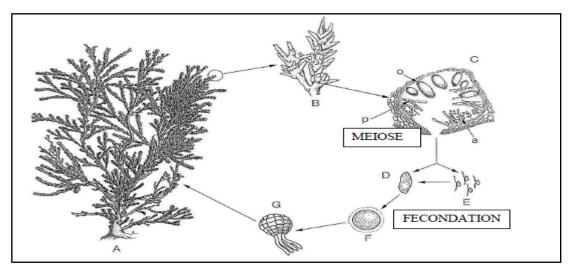


Figure 2 : Schéma du cycle de vie des espèces du genre Cystoseira. A : individu mature, B : extrémité d'une ramification avec des conceptacles, C : conceptacle en coupe transversale, D : gamète femelle, E : gamète mâle, F : zygote et G : zygote avec rhizoïdes (Gómez et al., 2001).

4. Espèce réglementée

Cette algue est inscrite à l'Annexe I (espèces de la flore strictement protégées) de la Convention de Berne relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe. Elle est aussi inscrite sur l'Annexe II (Liste des espèces en danger ou menacées) du Protocole ASP/DB (Aires Spécialement Protégées et la Diversité Biologique en Méditerranée) de la Convention sur la protection du milieu marin et du littoral de la Méditerranée (Convention de Barcelone). Notant que toutes les cystoseires méditerranéennes sont sur cette liste sauf *C. compressa*.

Les cystoseires sont considérées comme des « espèces ingénieurs » de leur habitat, ce qui leur confère une importance écologique considérable. La plupart des cystoseires supportent mal les variations de leur environnement ce qui les rend très vulnérables aux perturbations (Rodriguez-Prieto et al., 2013).

La cystoseire stricte est particulièrement menacée par la destruction de son habitat (aménagements littoraux), la pollution et les proliférations de moules (**Rodriguez-Prieto** *et al.*, 2013).

V. Étude chimique du genre Cystoseira

Les algues brunes du genre Cystoseira sont connues pour métaboliser majoritairement des terpènes (principalement des méroditerpènes et des diterpènes) ainsi que des phlorotannins. Alors que les diterpènes isolés de ces algues sont majoritairement linéaires, les méroditerpènes peuvent être classés en quatre groupes en fonction de la nature de la chaîne diterpénique latérale, ainsi, ils peuvent être linéaires, monocycliques, bicycliques ou réarrangés (**Figure 2**) (**Yannick, 2010**).

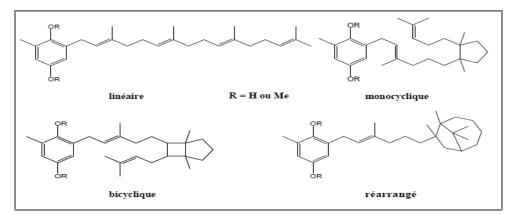


Figure 3 : Différents types de squelettes de méroditerpènes isolés à partir d'algues du genre Cystoseira (**Yannick**, **2010**).

Les composés phénoliques ou phlorotannins sont des polymères de phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzène) et sont classés en six groupes en fonction de leur structure chimique. On distingue ainsi les fucols, phloréthols, fucophloréthols, fuhalols, isofuhalols et eckols (**Figure 3**) (**Ragan et Glombitza, 1986**). Le poids moléculaire des composés phénoliques varie entre 126 et 650 000 Da (**Targett et Arnold, 2001**).

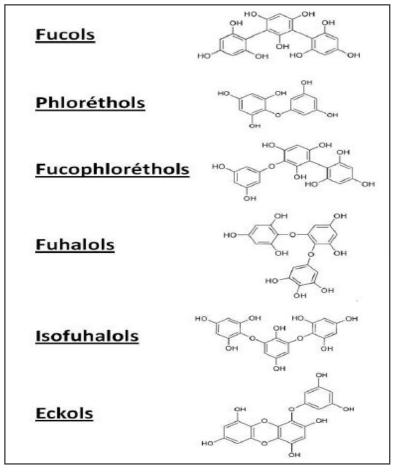


Figure 4 : Structures chimiques illustrant les six classes de phlorotannins (Amsler et Fairhead, 2006).

D'autres études ont pu isoler et identifier dans l'espèce C. stricta de métabolite sous forme d'un couple quinone-hydroquinone (2'E,6'E)-2-(10',11'-Dihydroxygéranylgéranyl)-6-méthylquinoline et (2'E,6'E)- 2- (10',11'-Dihydroxygéranylgéranyl)- 6-méthyl- 1,4-benzoquinone (**Amico** et al, 1982); de trois nouveaux métabolites appartenant à la classe des Méthyltoluquinols (isocystoketal, isostrictalcetal, isobalearone) et quatre Tétraprényltoluquinols (**Amico** et al, 1987); de deux méroditerpenes : 4'-méthoxy-(2E)-bifurcarenone et 2,12-diepineo- balearone (**Mesguiche** et al, 1997) et de stérols à savoir le fucostérol (93.1%), le 24-méthylène cholestérol (3.0%), le cholestérol (2.2%), $\Delta 5$ -avénastérol(1.0%), le β -sitostérol (0.6%), le desmostérol (0.1%) et le β -sitostérol (0.6%) (**Latrides** et al. (1983).

Figure 5. Différents types de stérol de Cystoseira stricta d'après Latrides et al (1983).

Une étude biochimique réalisée par **Pellegrini** (1971) illustrée dans **le tableau 2** résumé les teneurs maximales et minimales des composés trouvés dans l'espèce *C. stricta* qui est récoltée pendant les mois de l'année.

Tableau 2 : Teneurs maximales et minimales des composés en fonction du mois de l'année.

Composés	Teneur en (%) par	Mois où la teneur	Mois où la teneur
	rapport au poids sec	est maximale	est minimale
Cendres totales	18.4 - 32 .6	Aout	Janvier
Mannitol	9.78 - 16.1	Mai	Octobre
Acide alginique	26.1 - 37.6	Octobre	Mai
Cellulose	3.2 -6.1	Juillet	Septembre
Azote totale soluble	0.84 - 2.5	Février	Septembre

A propos de l'activité biologique, cette espèce possède un bon pouvoir antioxydant et cela est dû aux deux molécules tétraprényltoluquinols (Cystoketal et Strictaketal) (**Roberto** *et al.*, 2001). Elle représente un bon bioabsorbant des métaux lourds (**Iddou** *et al.*, 2011).

I.Définition des algues

Les algues sont des végétaux, ne possédant ni feuilles, ni tiges, ni racines. Leurcorps est un thalle, d'où leur nom de thallophytes(**Ibrahima**, 1995). 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 sont essentiellement aquatiques dans les eaux douces ou marines, et certaines vivent sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes. D'autres au contraire supportent dans les eaux des sources thermales des températures élevées (algues thermophiles). Elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal(**Morereetal., 2002**).

II. Grands groupes des algues

Les algues sont divisées en trois groupes selon leur pigmentation : algues vertes, algues brunes et algues rouges. Chacun de ces groupes est caractérisé par la présence de chlorophylle qui confère la couleur verte aux végétaux. Chez les algues brunes et rouges, les pigments surnuméraires se substituent au vert de la chlorophylle. Il s'agit des xanthophylles et des caroténoïdes (dont la fucoxanthine). Chez les algues rouges, il s'agit des phycoérythrines et phycocyanines(Floc'hetal., 2006).

- o algues vertesou les Chlorophycées, qui jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux. Elles sont de formes très variées, uni- ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, auxquelles sont associés carotènes et 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 (**Perez, 1997**).
- o algues rouges ou les Rhodophycées : l'association de la phycoérythrine à d'autres pigments chlorophylliens est à l'origine de la coloration rosâtre des plastes de ces algues.

Les Rhodophycées sont des organismes pluricellulaires d'origine marine, elles sont divisées en deux grands groupes, en fonction de leur cycle de reproduction : les Bangiophycées et les Floridéophycées(Guillaume, 2010).

- o algues brunes ou les Phéophycées de structure généralement pluricellulaire et de dimensions très variables, la majorité de ces algues vivent en milieu marin et présentent une couleur brunâtre résultant de l'association de pigments dominants, à savoir la xanthophylle et la fucoxanthine(Guillaume, 2010).
- o Les algues caméléons : ce type des algues utilise le mêmestratagème que le caméléon pour s'adapter à des variations de lumière. En effet, ces algues sont capables d'ajuster leur composition pigmentaire en fonction de leur environnement. En lumière faible, les algues augmentent le nombre de leurs pigments, les plastes qui les contiennent grossissent, ils vont se déplacer dans les cellules pour rejoindreles endroits les plus exposés à la lumière. En revanche si la lumière est trop intense, les pigments se raréfient, les plastes deviennent plus petits et changent de forme, ils se transforment en sphère et migrent à la base des cellules (Veronique et Jean-Yves, 2010).
- o Les algues peuvent changer de teinte selon la qualité de la lumière. Plus de caroténoïdes, moin de chlorophylle.Les algues vertes peuvent modifier leurs teneurs en chlorophylle b et en caroténoïdes.Les algues brunes, quant à elles, fabriquent plus de fucoxanthine et chlorophylle c à plus grand profondeur (**Veronique et Jean-Yves, 2010**).

III.Utilisation des algues

Les algues ont été utilisées depuis longtemps : au début dans l'alimentation des populations des rivages asiatiques, ou comme engrais en Europe ou encore pour le bétail. Depuis le XVIIIèmesiècle, l'iode est extrait industriellement des algues au Japon.Les algues ont été et sont encore utilisées à de nombreuses fins(Ainane, 2011).

□ Agroalimentaire : Gélose et alginates utilisées comme agents émulsifiants, épaississants
stabilisants, gélifiants (additifs de E400 à E408), excipients (Hillier, 2008);
☐ Agriculture :utilisées comme engrais ;
☐ Dentisterie: pâtes pour les empreintes dentaires ;
□ Industries chimiques : les frustules (enveloppes externes des diatomées) siliceux, son
utilisés comme abrasifs, ou isolants phoniques ou thermiques. Les colles, peintures, résines
caoutchoucs, savons utilisent des produits d'algues (Kornprobst, 2005).

$\hfill \square$ Médecine : en thalassothérapie, on utilise les bains d'algue (algothérapie) pour traiter les
rhumatismes ou certaines affections de l'appareil locomoteur, en chirurgie ou en gynécologie,
on utilise des stipes de laminaires (pour leur propriété à retenir l'eau tout en se dilatant) pour
débrider une plaie ou dilater une voie naturelle (Falshawet al., 2005);
□ Pharmacie : on utilise les propriétés laxatives ou vermifuges (Hypnea Carragheen)
anticoagulantes (Phyllophora) (Falshawetal., 2005).

IV. Position taxonomique de la famille des Sargassacées

Les Phéophycées, ou algues brunes, sontclassés dans le règne des Chromista. Au sein des Phéophycées, la famille des Sargassacées appartient à l'ordre des Fucales (Cho *et al.*,2006; Phillips *et al.*,2008). La classification des Sargassacées au sein des êtres vivants est résumée dans letableau 1.

Tableau1 : Classification des Sargassacées dans l'arbre de la vie (DeReviers, 2003 ; Cavalier-Smith, 2004 ; Phillips et al., 2008 ; Guiry, 2009).

Domaine	Eucaryote
Règne	Chromista
Sous règne	Chromobiota
Infra –règne	Hétérokonta
Embranchement	Ochrophyta
Infra-embranchement	Marista
Super classe	Fucistia
Classe	Phéophycées
Ordre	Fucales
Famille	Sargassacées
Genre	Cystoseira

La famille Sargassacéespossède des représentants dans la quasi-totalité des mers du globe à l'exception des Océans Arctique et Antarctique (**Klervi,2009**). Elle comprend 26 genres dont les plus importants sont *Cystophora*, *Cystoseira*, *SargassumetTurbinaria*. Ces genres représentent à eux seuls plus de 90% des espèces de la famille desSargassacéeset près de 85% des espèces de l'ordre des Fucales(**Guiry**, **2010**).

IV.1. Description du genre Cystoseira

Le genre Cystoseira, qui regroupe51 espèces, est essentiellement représenté dans les eaux froides et tempérées de l'hémisphère nord, et a lamer Méditerranéenne.

Les espèces du genre *Cystoseira* ont été décrites par **Agardh** (1820) comme des algues arborescentes, très ramifiées qui peuvent atteindre, pour les plus grandes, plus d'un 1 mètre de hauteur (**Gómez** *et al.*,2001). Les ramifications donnent à l'algue un aspect touffu. L'ensemble des espèces du genre *Cystoseira* sont caractérisées par la présence d'un disque basal épais qui les fixe au substrat. Ce disque est d'autant plus développé que l'espèce vit dans une zone agitée.

D'après Gómez Garretaet al. (2001) ;Cormaciet al., (2012) et Taskinet al., (2012), les principaux caractères servant à la détermination des espèces sont :

- Plante libre/ attachée (*C. barbata/C. foeniculacea*)
 - Cespiteuse/ axe simple (*C. stricta/C. barbata*)
 - Présence/absence de tophule (*C. funkii/C. brachycarpa*var. *balearica*)
 - Présence/absence d'aérocystes (C. usneoides/C. algeriensis)
 - Iridescence (C. stricta/ C. mediterranea, C. elegans)
 - Apex lisse/épineux (C. barbata/C. crinita).

IV.2. Présentation del'espèce Cystoseirastricta

1. Description

Cystoseirastricta est une algue érigée de couleur brune dont les thalles peuvent atteindre 40 cm de hauteur. Cette espèce est fixée au substrat par une base encroûtant étendue, d'où partent plusieurs axes dressés (thalle cespiteux). Ces axes sont cylindriques à sommet épineux à peine saillant et mesurent de 2 à 15 cm de hauteur. Ils produisent des rameaux primaires caducs, cylindriques et souvent sinueux, pouvant atteindre 30 cm de longueur qui portent des rameaux secondaires beaucoup plus courts, disposés irrégulièrement et eux-mêmes divisés. Tous ces rameaux sont couverts de nombreux ramules courts spiniformes assimilés à de petites feuilles (Cabioc'hetal., 2006). Les rameaux primaires, très flexibles, suivent le mouvement des vagues. Lorsqu'ils sont émergés, ils s'étalent sur la roche. Les jeunes rameaux et les extrémités de l'algue ont souvent une iridescence bleu-vert. L'algue est couverte de petites cryptes pilifères dispersées (Delepineetal., 1987).

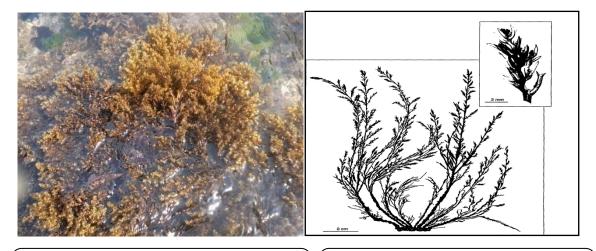


Photo 1: Cystoseirastricta. (Photo prise par Belmahjoub Mariam, 2014).

Figure 1 : Aspect générale de Cystoseirastricta d'après Verlaque

2. Habitat

L'espèce *Cystoseirastricta* est principalement localisée en mer Méditerranée, de l'Espagne à la Turquie ainsi que sur les côtes nord-africaines, et en Atlantique nord-est ; elle est d'ailleurs présentée comme espèce protégé (**Guiry**, **2010**).

3. Cycle de vie

L'espèce est hermaphrodite. Les gamètes mâles et femelles sont produits dans de petites cryptes pilifères fertiles (conceptacle) groupées dans la partie terminale renflée des rameaux (réceptacles). Les réceptacles, longs de quelques mm à 2 cm, sont cylindriques, plus ou moins compacts et couverts de ramules épineux. A maturité, les spermatozoïdes puis les oosphères passent à l'extérieur par l'ouverture du conceptacle (ostiole) et la fécondation a lieu dans l'eau (Rodriguez-Prietoet al., 2007).

Les œufs coulent et se collent au substrat dans les 12 heures qui suivent la fécondation, ce qui limite la dispersion de cette espèce et peut expliquer sa vulnérabilité face aux perturbations (faible capacité de recolonisation)(Guern, 1962). Néanmoins, en présence de courants, les thalles fertiles arrachés du substrat peuvent être disséminés et contribuer à la propagation de cette espèce. (Coleman etBrawley, 2005).

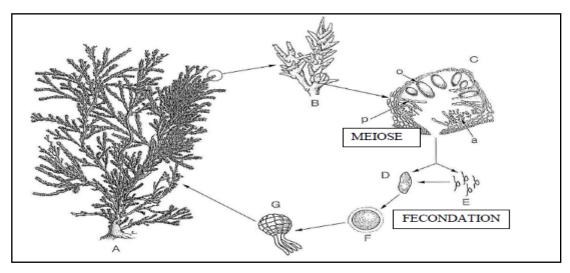


Figure 2 : Schéma du cycle de vie des espèces du genre Cystoseira. A : individu mature, B : extrémité d'une ramification avec des conceptacles, C : conceptacle en coupetransversale, D : gamète femelle, E : gamète mâle, F : zygote et G : zygote avec rhizoïdes (**Gómez** *et al.*, **2001**).

4. Espèce réglementée

Cette algue est inscrite à l'Annexe I (espèces de la flore strictement protégées) de la Convention de Berne relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe. Elle est aussi inscrite sur l'Annexe II (Liste des espèces en danger ou menacées) du Protocole ASP/DB (Aires Spécialement Protégées et la Diversité Biologique en Méditerranée) de la Convention sur la protection du milieu marin et du littoral de la Méditerranée (Convention de Barcelone). Notant que toutes les cystoseires méditerranéennes sont sur cette liste sauf *C. compressa*.

Les cystoseires sont considérées comme des « espèces ingénieurs » de leur habitat, ce qui leur confère une importance écologique considérable. La plupart des cystoseires supportent mal les variations de leur environnement ce qui les rend très vulnérables aux perturbations (Rodriguez-Prietoet al., 2013).

La cystoseire stricte est particulièrement menacée par la destruction de son habitat (aménagements littoraux), la pollution et les proliférations de moules (**Rodriguez-Prieto**et al., 2013).

V. Étude chimique du genre Cystoseira

Les algues brunes du genre Cystoseira sont connues pour métaboliser majoritairement des terpènes (principalement des méroditerpènes et des diterpènes) ainsi que des phlorotannins. Alors que les diterpènes isolés de ces algues sont majoritairement linéaires, les méroditerpènes peuvent être classés en quatre groupes en fonction de la nature de la chaîne diterpénique latérale, ainsi, ils peuvent être linéaires, monocycliques, bicycliques ou réarrangés (**Figure 2**)(**Yannick, 2010**).

Figure 3 : Différents types de squelettes de méroditerpènes isolés à partir d'algues du genre Cystoseira(Yannick, 2010).

Les composés phénoliques ou phlorotanninssont des polymères de phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzène) et sont classés en six groupes en fonction de leur structure chimique. On distingue ainsi les fucols, phloréthols, fucophloréthols, fuhalols, isofuhalols et eckols (**Figure 3**) (**Ragan et Glombitza, 1986**). Le poids moléculaire des composés phénoliques varie entre 126 et 650 000 Da (**Targett et Arnold, 2001**).

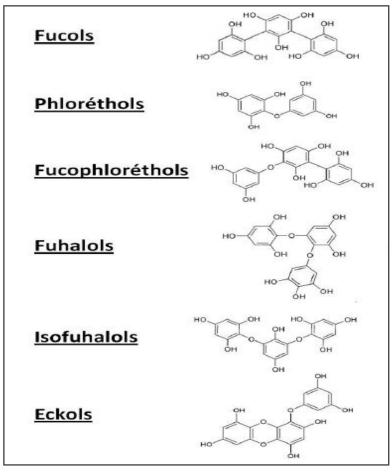


Figure 4 : Structures chimiques illustrant les six classes de phlorotannins(Amsler et Fairhead, 2006).

D'autres études ont pu isoler et identifier dans l'espèce *C.stricta* de métabolite sous forme d'un couple quinone-hydroquinone (2'E,6'E)-2-(10',11'-Dihydroxygéranylgéranyl)-6-méthylquinoline et (2'E,6'E)-2-(10',11'-Dihydroxygéranylgéranyl)- 6-méthyl-1,4-benzoquinone(**Amicoet al, 1982**); de trois nouveaux métabolites appartenant à la classe des Méthyltoluquinols (isocystoketal,isostrictalcetal,isobalearone)et quatre Tétraprényltoluquinols (**Amicoet al, 1987**); dedeux méroditerpenes : 4'-méthoxy-(2E)-bifurcarenone et 2,12-diepineo- balearone(**Mesguicheet al., 1997**)et de stérols à savoir le fucostérol(93.1%), le 24-méthylènecholestérol(3.0%),le cholestérol (2.2%), Δ 5-avénastérol(1.0%), le β -sitostérol (0.6%),le desmostérol (0.1%) et le β -sitostérol (0.6%) (**Latridesetal.(1983)**.

Figure 5. Différents types de stérol de Cystoseirastrictad'après Latridesetal(1983).

Une étude biochimique réalisée par **Pellegrini** (1971) illustrée dans **le tableau 2** résumé les teneurs maximales et minimales des composés trouvés dans l'espèce *C. stricta*qui est récoltée pendant les mois de l'année.

Tableau 2:	Teneurs maxima	ales et minimal	les des composés	en fonction d	lu mois de l'année.
------------	----------------	-----------------	------------------	---------------	---------------------

Composés	Teneur en (%) par	Mois où la teneur	Mois où la teneur
	rapport au poids sec	est maximale	est minimale
Cendres totales	18.4 - 32 .6	Aout	Janvier
Mannitol	9.78 - 16.1	Mai	Octobre
Acide alginique	26.1 - 37.6	Octobre	Mai
Cellulose	3.2 -6.1	Juillet	Septembre
Azote totale soluble	0.84 - 2.5	Février	Septembre

A propos de l'activité biologique, cette espèce possède un bon pouvoir antioxydant et cela est dû aux deux molécules tétraprényltoluquinols (Cystoketal et Strictaketal) (**Roberto** *et al.*, **2001**). Elle représente un bon bioabsorbant des métaux lourds(**Iddou***et al.*, **2011**).

Introduction

Le monde microbien est le groupe d'organismes vivants le plus diversifié et le plus adapté aux facteurs biotiques et physico-chimiques de la planète. En effet les microorganismes sont à l'origine de l'apparition de la vie sur terre depuis plus de quatre milliards d'années. Ils se sont adaptés aux différentes variations de température, salinité, pH, pression, présence et absence d'oxygène. Ils synthétisent la matière organique avant l'apparition de la photosynthèse et de l'oxygène atmosphérique (**Tony et Paul, 2000**).

Les bactéries sont des cellules procaryotes, leur ADN n'étant pas localisé dans un noyau. À l'exception des mycoplasmes, les bactéries sont entourées par une paroi complexe, différente selon que la bactérie est à Gram positif ou négatif. De nombreuses bactéries possèdent des flagelles, des pili, ou une capsule à l'extérieur de la paroi (**Tony et Paul, 2000**).

I. Présentation de quelques espèces microbiennes

1. Klebsiella pneumoniae

Cette bactérie est une espèce ubiquiste, isolée des eaux de surface, des eaux usées, des effluents industriels, du sol, du bois, de végétaux diverse des aliments (**Baraniakh**, 2009). Elle est également retrouvée dans la flore fécale d'environ 30% des animaux et de l'homme, elle existe à l'état commensal sur la peau et les muqueuses, notamment respiratoires (**Ciobotaro**, 2011).

C'est une bactérie immobile, non sporulé, aéro-anaérobie, a un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermente le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive, ODC négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négatives, ne produise pas d'hydrogène sulfuré et fermente de nombreux sucres dont l'inositol. Elle a une réaction de Voges-Proskauer positive (VP+) et uréase + (Kassis -Chikhani, 2012).

Klébseilla pneumoniae est reconnue comme un important pathogène opportuniste à Gram négatif (**Podschun** *et al.*, 2000). Elle est responsable de diverses infections (suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires et hépatiques intra-abdominales) (**Chung** *et al.*, 1992).



Figure 6: Klebsiella pneumoniae vue en microscope électronique (skywind.wkhc.ac.kr).

2. Escherichia coli

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des Enterobacteriaceae. *Salmonella* ou encore *Shigella* appartiennent également à cette famille. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aéro anaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates et qui ne possèdent pas d'oxydase (**Le minor** *et al.*, 1990).

Cependant, il existe des souches d'*E. coli* pathogènes qui se distinguent des souches commensales par l'acquisition de propriétés de virulence à l'égard de l'hôte (**Choreh**, **2013**). Ces propriétés de virulence leur permettent de s'affranchir des mécanismes de défense de l'hôte afin de s'établir dans de nouvelles niches écologiques et d'exprimer leur pathogénicité. Selon les facteurs de virulence acquis et leur tropisme tissulaire, ces souches d'*E. coli* pathogènes ou pathovars peuvent être à l'origine d'infection du tractus digestif, de l'arbre respiratoire et du tractus urinaire, mais également de méningites et de septicémies (**Choreh**, **2013**).

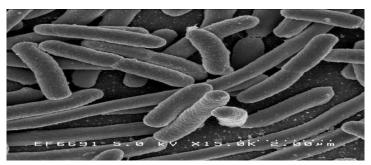


Figure 7 : Escherichia coli vue en microscope électronique. (http://en.wikipedia.org/wiki/Image:EscherichiaColi_NIAID.jpg).

3. Micrococcus luteus

Les *Micrococcus luteus* sont présentes partout dans le monde et dans tous les milieux. On les trouve sur la peau des humains et des animaux, dans le sol, les eaux de mer et douce et dans les plantes (**Bannerman et Peacock**, **2007**).

Elles sont des coques Gram positif, oxydase-positifs et aérobies stricts de la famille des Micrococcaceae. Elles se retrouvent habituellement en grappes irrégulières, en tétrades ou en paires, où les cellules individuelles mesurent de 1 à 1,8 µm de diamètre et sont habituellement non mobiles et non sporulées (**Kocur** *et al.*, **2006**).

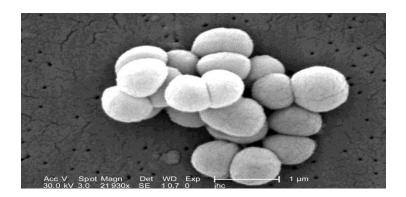


Figure 8 : Micrococcus luteus vue en microscopie électronique à balayage (www.wikipédia.org).

4. Pseudomonas aeruginosa:

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie Gram-négatif opportuniste vivant normalement à l'état saprophyte dans l'eau, les sols humides et les végétaux, mais qui peut également vivre à l'état commensale sur la peau ou à l'intérieur du système digestif de divers animaux (Sabin, 2006).

Les souches de cette espèce sont constituées de bacilles de 0,5 à 0,8 µm de diamètre sur 1,5 à 3,0 µm de longueur, se présentant de manière isolée ou groupée par deux ou en courtes chaînes, mobiles grâce à une ciliature monotriche (quelques rares cellules portent cependant plusieurs flagelles polaires) (Euzeby, 2005).

Pseudomonas aeruginosa possède une oxydase, Indole -, urée -, H₂S -, gélatine+, ONPG-(orthonitrophényl-galactose), Nitrate-réductase +,LDC- (Lysine-décarboxylase), ODC -(Ornithine-décarboxylase) (**Lie. S, 2002**).

Elle a une membrane externe faiblement perméable, ce qui lui confère une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques, dont la plupart des bêta-lactamines (Carpentier et al., 2003). La bactérie produit d'une beta-lactamase chromosomique inductible qui n'est pas inhibée par le clavulanate et qui hydrolyse préférentiellement les céphalosporines (Sougakoff et al., 2003). En plus l'existence des systèmes d'efflux augmente la virulence et la résistance aux antibiotiques (Cattoir, 2004).

P. aeruginosa est responsable de 16 % des infections pulmonaires, de 12% des infections du tractus urinaires, de 8% des infections touchant les grands brûlés et de 10% des infections du sang (bactériémie et/ou septicémie). Cette bactérie est également une des causes majeures de mortalité et de morbidité chez les personnes atteintes de mucoviscidose (Rossignol, 2007).

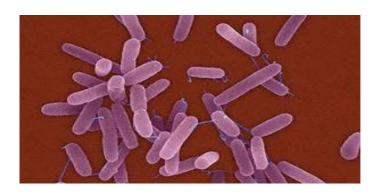


Figure 9: *Pseudomonas aeruginosa* vue en microscopie électronique à balayage. (www.ciriscience.org).

5. Bacillus cereus

Bacillus cereus est une bactérie gram positif, et elle est capable de s'adapter à une large gamme de conditions environnementales. Elle est largement distribuée dans la nature et se trouve couramment dans le sol comme un organisme saprophyte (Vilain, 2006).

En outre, *B. cereus* est un pathogène humain opportuniste et est parfois associée à des infections, provoquant des maladies parodontales et d'autres infections plus graves (Hoffmaster, 2006).

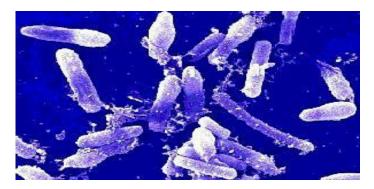


Figure 10: Bacillus cerius vus en microscopie électronique (www.ncbi.nlm.nih.org).

6. Staphylococcus aureus

C'est une bactérie à Gram positif de 0.5 à 1.0 µm de diamètre associé par paires, en chainettes de 3 à 5 coques, ou en amas irrégulier, en grappe de raisins. Elle est une bactérie immobile, non sporulé, anaérobie facultatif, oxydase négatif catalase positif. C'est un germe mésophile dont la température optimale de croissance est comprise entre 35 et 41°C. (Jouve, 1996).

Chez l'homme, *S. aureus* est responsable des infections localisé à la peau et des muqueuse. Elle s'accompagne très souvent d'infection viscérale (**Michel, 2005**).

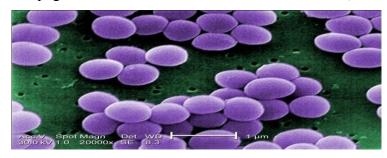


Figure 11: Staphylococcus aureus vus en microscopie électronique à balayage. (www.Wikimedia.com).

7. Candida albicans

Candida albicans est une levure, une sorte de champignon microscopique. On la considère comme un microorganisme commensal, car elle est retrouvée dans la flore normale du tractus gastro-intestinal et de la peau (**Runhnke et Maschmeyer**, **2002**). Elle est présentée, en autre, dans le tractus génital chez environ 20% des femmes. Cette levure colonise aussi la cavité buccale chez environ 45% de la population adulte (**Akpan** *et al.*, **2002**).

Chez un hôte susceptible, cette levure opportuniste peut causer plusieurs infections autant superficielles (peau, muqueuses et ongles) que systémiques (sang, cœur) (**Odds**, **1994**). Plusieurs prédispositions, comme la chimiothérapie, ou une transplantation d'appareil médical, tels que des cathéters, des prothèses et des implants (prothèse dentaire, lentilles cornéennes) favorisent les candidoses, des infections fongiques. (**Costa** *et al.*, **2008**).

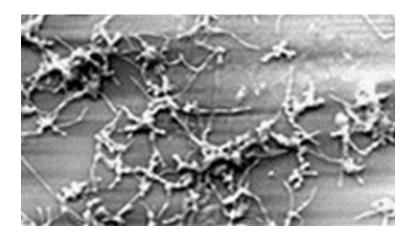


Figure 12 : Biofilms de *Candida albicans* au microscope électronique grossissement 500X (sante-medecine.commentcamarche.net).

II.Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances élaborées par des micro-organismes, ou des substances synthétiques, qui sont bactériostatiques ou bactéricides à dose faible. Leurs cibles d'activité sont des structures moléculaires spécifiquement bactériennes. Elles ont donc une toxicité sélective pour les cellules procaryotes et une toxicité faible pour les cellules eucaryotes (Avril et al., 2002).

I. Zone d'échantillonnage

L'algue *Cystoseira stricta* a été récoltée du mois de mars 2013 jusqu'au mois de février 2014 dans la plage de Madrid dont les caractéristiques géographiques sont : latitude (35°18'8.96"N) et longitude (1°28'4.16"O). Madrid est une plage qui se trouve prés de la plage de Rachgoun et à 7 km de la ville de Béni-Saf (Côte nord-ouest de l'Algérie) (**Figure 14, Photo 2**).

Le choix de cette espèce a pour but de valoriser la biomasse algale de la côte ouest algérienne en déterminant leur activité antimicrobienne.

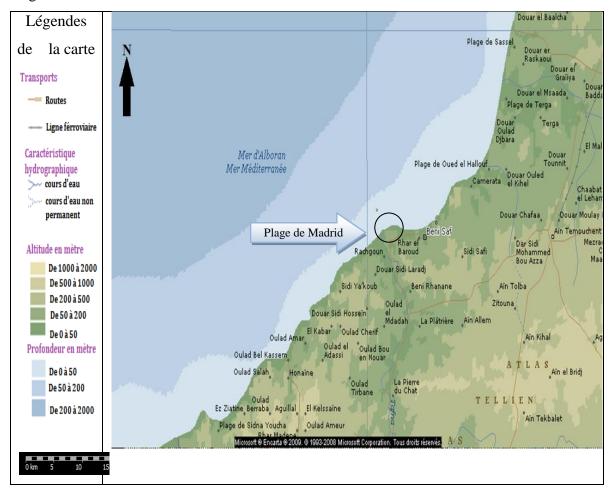


Figure 13: Carte géographique de la région de récolte (Encarta, 2009).



Photo 2 : Région d'échantillonnage (Photo prise par Belyargoubi L., 2013).

II. Récolte du matériel et préparation des échantillons

Les échantillons de l'algue ont été récoltés mensuellement avec les mains au niveau de la plage de Madrid. Ils sont lavés avec de l'eau de mer pour débarrasser tous les débris adhérents à leurs thalles, puis placés dans des sacs en plastique fermés hermétiquement contenant l'eau de mer.

Au laboratoire, ces échantillons sont à nouveau rincés avec de l'eau de robinet puis avec de l'eau distillée pour les mettre dans une chambre à l'obscurité et à la température ambiante jusqu'à déshydratation complète. Après le séchage, les spécimens ont été conservés dans des sacs en papier jusqu'à leurs utilisations ultérieur (El hassouni, 2013).

L'espèce *Cystoseira stricta* a été identifiée par le Docteur Benguedda Wassila, laboratoire de recherche : Valorisation des actions de l'homme pour la protection de l'environnement et application en santé publique, Département d'Écologie, Université de Tlemcen.



Photo3 : Cystoseira stricta après le séchage.

III.Extraction du produit algal

L'extrait est obtenu en ajoutant 1g de la poudre algale à 20 ml du solvant (acétone et hexane). Le mélange obtenu est macéré à l'abri de la lumière pendant 48 h à température ambiante, ensuite une filtration sur papier filtre a été réalisée. Le filtrat obtenu est évaporé à sec à 40 °C sous pression réduite avec un évaporateur rotatif de type HAHNVAPOR R-200. L'extrait obtenu est récupéré par le méthanol puis conservé à 4°C jusqu'à son utilisation.



Photo 4 : Processus de l'évaporation en utilisant un évaporateur rotatif.

Calcule du rendement

Les pourcentages des extraits bruts acétonique et hexanique ont été calculés par la formule suivante :

$$R (\%) = M/M_0 \times 100$$

R: Rendement exprimé en %

M: Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M₀: Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

IV. Étude du pouvoir antimicrobien

IV.1.Microorganismes utilisés

Les germes qui ont fait l'objet des tests antimicrobiens font partie des microorganismes rencontrés en pathologie humaine. Ce sont des souches ATCC répertoriées (American Type Culture Collection).

Les espèces bactériennes testées sont :

- ✓ **Gram négatif :** Escherichia coli (ATCC 8739), Klebsiella pneumoniae(ATCC 700603), Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853) ;
- ✓ **Gram positif :** *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus cereus* (ATCC 10876) *et Micrococcus luteus* (ATCC 9341) ;
- ✓ **Levure :** Candida albicans (ATCC 26790).

IV.2. Conservation des souches

Les souches étaient conservées à 4°C dans des tubes stériles contenant 7 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive pour les bactéries et gélose Sabouraud pour la levure).

IV.3. Confirmation des souches

1. Test de la catalase

Pendant leur respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui est très toxique. Certaines bactérie sont capables de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygène selon la réaction :

$$2H_2O_2$$
 Catalase $2H_2O+O_2$.

Sur une lame propre, une goutte d'eau oxygénée est déposée à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée puis l'inoculum bactérien est ajouté. L'observation est immédiate :

S'il y'a une apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène, le test de catalase est positif (+).

Si il n'y a pas de bulles, le test de catalase est négatif (-).

2. Coloration de Gram

Sur un frottis étalé, séché et fixé, on verse une solution de violet de gentiane et on laisse agir pendant 1 min.

- -On rejet le violet de gentiane en entrainant avec la solution de lugol, on le laisse agir pondant 1 min puis on le rince avec l'eau distillée.
- -On rince le frottis avec l'alcool pendant 45 secondes.
- -On rince avec l'eau distillée
- -On recouvre la lame avec la solution de la fushine et on laisse agir pendant 30 secondes. Ensuite on rince avec l'eau distillée.
- -On se fait en épongeant la lame colorée entre deux feuilles de papier filtre fin .on dépose ensuite une gouttes d'huile à immersion et on observer au grossissement x 100.

Observation des bactéries : les bactéries à Gram positif sont colorées en violet foncé et celle à Gram négatif sont coloré en rose.

IV.4. Réalisation de l'antibiogramme

La méthode utilisée pour réaliser l'antibiogramme est la technique de standardisation de l'antibiogramme selon les recommandations de l'OMS et elle est réalisée à l'échelle nationale par **Rahal** *et al.* (2011).

L'effet antimicrobien était testé par différents antibiotiques couramment utilisés sur six souches pathogènes, ceci afin de comparer l'efficacité thérapeutique des extraits d'algue.

IV.4.1.Liste des antibiotiques utilisés

Nous avons utilisé des disques de 6 mm de diamètre imprégnés des antibiogrammes à différentes concentrations conditionnés par le fabricant (Institut Pasteur, Alger).

Tableau 03 : Liste des antibiogrammes testés sur les bactéries et la levure.

Antibiogrammes	Code	Charge		
Ampicilline	AMP	10 µg		
Bacitracine	B 10 UI			
Cefotaxine	CTX	30 μg		
Lincomycine	L	15 μg		
Pénicilline	P	6 μg		
Tétracycline	TE	30 µg		
Vancomycine	VA	30 µg		
Nystatine	-	30 μg		

IV.4.2.Milieux utilisés:

- Bouillon Brain heart broth (BHB) (Fluka).
- Gélose Mueller-Hinton ((*Fluka*) coulée dans des boîtes de Pétri d'une épaisseur de 4 mm.

IV.4.3.Inoculum:

Pour la fixation de l'inoculum de départ, nous avons employé une méthode photométrique (Atwal, 2003).

- A partir d'une préculture d'environ 20 h sur bouillon BHB pour les bactéries et 48 h pour la levure, on prépare une suspension bactérienne dont la densité optique doit être de 0.08 à 0.1 mesurée à 625 nm pour les bactéries et 540 nm pour la levure afin d'avoir une concentration de 10⁸ UFC/ ml.
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien du milieu stérile s'il est trop chargé.
 - L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

IV.4.4. Ensemencement:

L'ensemencement se fait par la méthode d'écouvillonnage :

- On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- On l'essore en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- On ensemence par des stries serrées la totalité de la surface gélosée par l'écouvillon, de gauche à droite.
- L'opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui même. L'ensemencement est finit en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

IV.4.5. Application des disques d'antibiotiques :

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre;
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé (**Racal** *et al.*, **2011**).

IV.4.6. Incubation:

Les boites sont incubées pendant 24 heurs à 37°C pour les bactéries et 48 h à 30°C pour la levure.

IV.4.7. Lecture:

- On mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'extérieur de la boîte fermée ;
- On compare les résultats aux valeurs critiques ;
- Selon le diamètre d'inhibition, on classe la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Resistance.

IV.5. Évaluation de l'activité antimicrobienne

IV.5.1. Préparation des extraits

Les extraits secs acétonique et hexanique sont récupérés dans le DMSO pour obtenir la concentration de 100 mg/ml.

IV.5.2. Milieux des cultures utilisées

- Le bouillon BHB et Gélose Müeller Hinton pour les bactéries (Fluka).
- Gélose Sabouraud pour la levure (Fluka).

IV.5.3. Pré cultures des bactéries

- Pour chaque micro-organisme, le milieu de culture stérile (Bouillon BHB) de 7 ml a été inoculé avec des colonies bien isolées et parfaitement identiques prélevées d'une culture conservée ;
- Sur des boites de Pétri contenant le milieu Müeller-Hinton, on ensemence par écouvillonnage la suspension bactérienne préculturée. Du même pour la levure *Candida albicans* sauf que les boites sont coulées par le milieu Sabouraud.

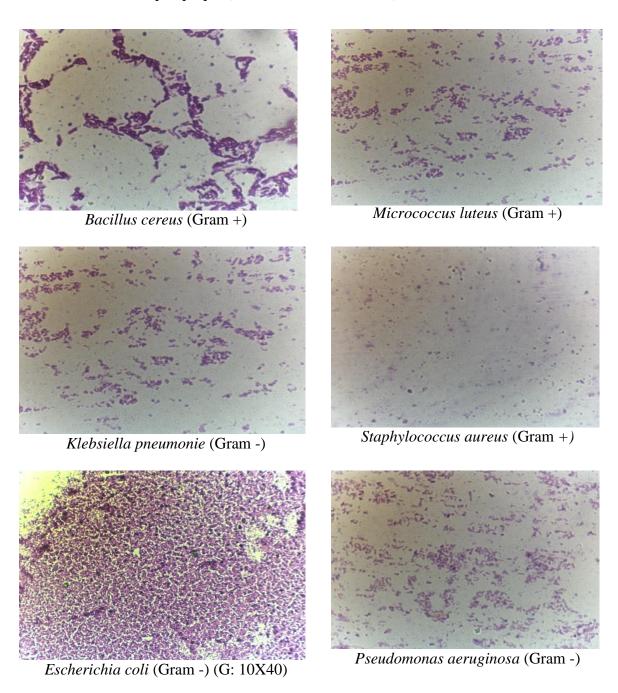
IV.5.4.Méthode de diffusion sur agar (méthode des disques)

L'activité antimicrobienne a été déterminée en utilisant la méthode de diffusion sur agar (Lesueur et al., 2007; Boulekbache-Makhlouf et al., 2012).

Dans des boites de Pétris stériles préalablement coulées par des milieux (Müller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour la levure), les microorganismes sont écouvillonnées sur la surface des géloses à l'aide d'un écouvillon contenant une charge de 10^8 UFC/ml. Puis, des disques de papier filtre stérile de 6 mm de diamètre, imprégnés de $10~\mu l$ de différents extraits acétonique et hexanique de concentration 100~mg/ml, sont déposés sur la surface des milieux. Après incubation de 24~h à $37~^{\circ}C \pm 1$, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm.

1. Résultats de la coloration de Gram

Les photos ci-dessous représentent la coloration de Gram des souches bactériennes testées sous microscope optique (Grossissement : 10 X100).



Photos 5 : Photos représentant la coloration de Gram des souches bactériennes testées.

2. Résultats du test catalase :

Toutes les souches bactériennes sont pourvues de l'enzyme catalase

Tableau 04 : Résultats du test de la catalase

Souches bactériennes	Catalase	
Escherichia coli	+	
Pseudomonas aeruginosa	+	
Staphylococcus aureus	+	
Micrococcus luteus	+	
Klebsiella pneumonie	+	

+: catalase positive

I. Résultats de l'antibiogramme

Les diamètres des spectres d'action des antibiotiques observés sur les six souches bactériennes ont été mesurés et représentés dans les figures (14, 15, 16, 17,18) :

I.1. Escherichia coli ATCC 8739

Selon les résultats de l'antibiogramme présentés dans **la figure 14**, les antibiotiques : Céfotaxine, Tétracycline sont les plus efficaces sur *E. coli* avec des diamètres des zones d'inhibition de 30 et 31mm, respectivement.

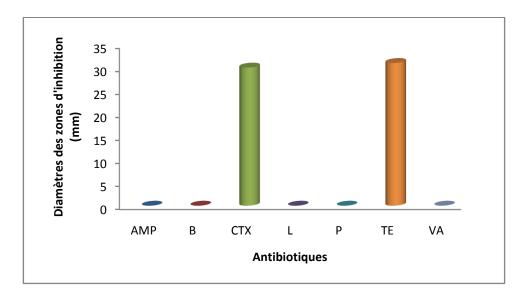


Figure 14 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Escherichia coli*.

Les deux antibiotiques Céfotaxime, Tétracycline exercent un effet inhibiteur sur *Escherichia*, contrairement aux autres antibiotiques où cette souche présente une résistance totale (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *Escherichia coli* (CASFM, 2012).

Antibiotiques	Interprétation de l'antibiogramme
Ampicilline	R
Bacitracine	R
Céfotaxime	S
Lincomycine	R
Pénicilline	R
Tétracycline	I
Vancomycine	R

R: Résistante, S: Sensible, I: Intermédiaire.

I.2. Klebsiella pneumoniae ATCC 700603

D'après les résultats de l'antibiogramme présentés dans **la figure 15**, les antibiotiques Cefotaxime et Tétracycline sont les plus efficaces sur *K. pneumoniae* avec des diamètres des zones d'inhibition de 15 et 27 mm, respectivement.

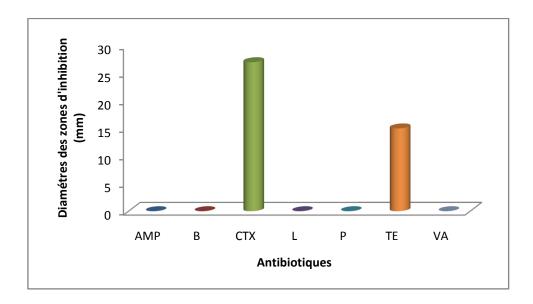


Figure 15 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Klebsiella pneumoniae*.

Nous constatons une résistante remarquable de la souche *Klebsiella pneumoniae* testée vis-à-vis de l'Ampicilline, Bacitracine, Lincomycine, Pénicilline, Vancomycine et une sensibilité pour le Céfotaxime (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *Klebsiella pneumoniae* (CASFM, 2012).

Antibiotiques	Interprétation de l'antibiogramme
Ampicilline	R
Bacitracine	R
Céfotaxime	S
Lincomycine	R
Pénicilline	R
Tétracycline	R
Vancomycine	R

R: Résistante, S: Sensible.

I.3. Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Les résultats illustrés dans **la figure 16** montrent que les antibiotiques tétracyclines et Céfotaxime ont les plus grandes zones d'inhibition avec des diamètres de 13 et 18 mm, respectivement.

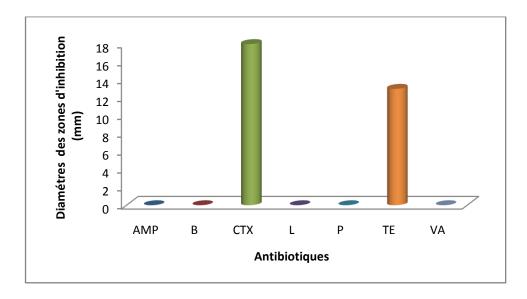


Figure 16 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Cette souche présente une résistance totale vis-à-vis à tous les antibiotiques testés (Tableau 7).

Tableau 7 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour Pseudomonas *aeruginosa* (CASFM, 2012).

Antibiotiques	Interprétation de l'antibiogramme
Ampicilline	R
Bacitracine	R
Céfotaxime	R
Lincomycine	R
Pénicilline	R
Tétracycline	R
Vancomycine	R

R: Résistante.

I.4. Staphylococcus aureus ATCC 6538

D'après la **figure 17**, nous constatons, qu'à l'exception de Bacitracine où il y'a une absence de zone d'inhibition, les autres antibiotiques testés sur la souche à Gram positif *Staphylococcus aureus* possèdent des diamètres qui varient entre 18 et 49 mm.

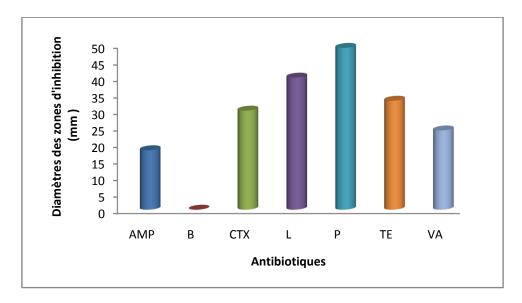


Figure 17 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Staphylococcus aureus*.

D'après **le tableau 8,** nous observons une sensibilité de *S. aureus* vis-à-vis des antibiotiques testés sauf pour Bacitracine et Ampicilline où il ya une résistance et une sensibilité intermédiaire de la souche, respectivement.

Tableau 8 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus* (CASFM, 2012).

Antibiotiques	Interprétation de l'antibiogramme
Ampicilline	I
Bacitracine	R
Cefotaxime	S
Lincomycine	S
Pénicilline	S
Tétracycline	S
Vancomycine	S

R: Résistante, S: Sensible, I: Intermédiaire.

I.5. Bacillus cereus ATCC 10876

Contrairement aux autres souches testées, la souche *Bacillus cereus* résiste aux antibiotiques Ampicilline, Céfotaxime, Bacitracine et Pénicilline mais elle est sensible aux Vancomycine, Lincomycine, et Tétracycline avec des zones d'inhibition de 21, 26 et 21 mm, respectivement (**Figure 18, Tableau 09**).

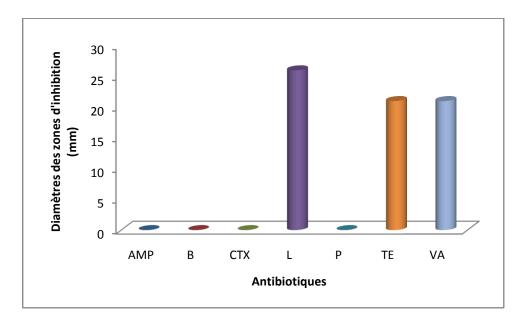


Figure 18 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Bacillus cereus*.

Tableau 9 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *Bacillus cereus* (CASFM, 2012).

Antibiotiques	Interprétation de l'antibiogramme
Ampicilline	R
Bacitracine	R
Cefotaxime	R
Lincomycine	S
Pénicilline	R
Tétracycline	S
Vancomycine	S

R: Résistante, S: Sensible.

I.6. Micrococcus luteus ATCC 9341

Selon les résultats de l'antibiogramme présentés dans la **figure 19**, les antibiotiques Lincomycine, Bacitracine et Ampicilline ne possèdent aucune zone d'inhibition sur notre souche. Pour les autres antibiotiques, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 9 et 40 mm.

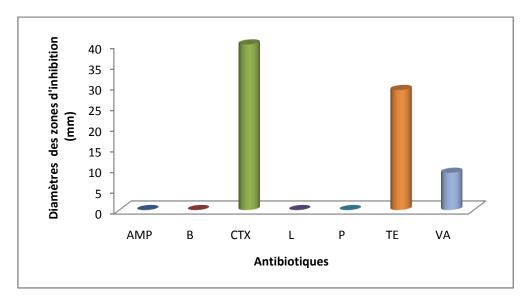


Figure 19 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Micrococcus luteus*.

Le **tableau 10** montre que la souche est résistante pour tous les antibiotiques testés (Lincomycine, Bacitracine, Ampicilline, Pénicilline et Vancomycine), à l'exception de Cefotaxime et Tétracycline où *M. luteus* est sensible.

Tableau 10 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *Micrococcus luteus* (CASFM, 2012).

Antibiotiques	Interprétation de l'antibiogramme
Ampicilline	R
Bacitracine	R
Cefotaxime	S
Lincomycine	R
Pénicilline	R
Tétracycline	S
Vancomycine	R

R: Résistante, S: Sensible.

II. Résulta de l'antifongigramme

La levure *Candida albicans* ATCC 26790 a montré une résistance totale contre la nystatine (30 µg).

III. Résultats de la méthode de disques

Du fait que les extraits acétonique et hexanique dont les rendements sont de 1.91 et 3.37% respectivement, ont été récupérés par le DMSO, ce dernier est testé vis-à-vis les six souches bactériennes et la levure *C. albicans* afin de vérifier son pouvoir antimicrobien et antifongique avec un volume de 10 µl. Les résultats obtenus ont révèle négatifs, ce qui prouve qu'il n'a aucun effet inhibiteur.

Les extraits acétonique et hexanique de l'algue brune *C. stricta* n'exercent aucune activité inhibitrice sur les souches bactériennes *E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa et M. luteus.* Ce résultat concorde avec les travaux de **Souhail** *et al.* (2003) *et* **Ainane** (2011) sur *C. tamariscifolia,* Ünci et *al.* (2006) sur *C. mediterranea* et **Guven** *et al.* (2006) sur *C.barbata.*

Par contre, les bactéries *S. aureus et B. cereus* et la levure *C. albicans* sont sensibles pour notre extraits algaux de *C. stricta*. Les diamètres des spectres d'action des extraits observés sur les souches bactériennes durant une année ont été mesurés et représentés dans les **figures** (20, 21 et 22).

III.1. Effet inhibiteur des extraits acétonique et hexanique sur *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

D'après les résultats obtenus dans la **figure 20** et **photo 6**, l'extrait acétonique a montré une activité antibactérienne meilleure par rapport à l'extrait hexanique. Ce pouvoir est variable en fonction de la variation saisonnière.

Nous notons que l'extrait acétonique du mois de Mars détient une zone d'inhibition la plus importante avec un diamètre de 18.5 mm. Les mois d'Avril et Juillet ont aussi révélé un pouvoir moins important avec une zone d'inhibition de 15.5 mm de diamètre.

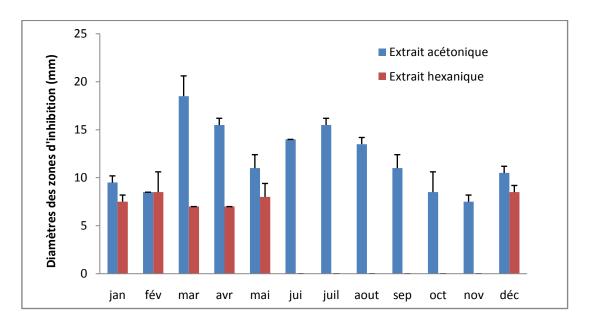


Figure 20. Diamètres des zones d'inhibition des extraits acétonique et hexanique sur la souche *Staphylococcus aureus*.

A partir du mois d'août jusqu'au mois de novembre, une diminution des zones d'inhibition a été remarquée avec des diamètres qui varient entre 13.7 et 7.5 mm. Au mois de décembre, l'extrait acétonique a exercé un effet inhibiteur sur *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 10.5 mm de diamètre.

Nous avons constaté que l'extrait hexanique n'a exercé aucun effet inhibiteur durant les mois du juin jusqu'au mois de novembre. Par contre les travaux de **Guven** *et al.*, (2006) ont montré un effet inhibiteur de l'extrait hexanique de l'algue brune *C. barbata*, récoltée de la côte de la Türkiye contre *S. aureus* (ATCC 6538) au mois de septembre et novembre avec le diamètre de la zone d'inhibition de 13 mm à la concentration 4 mg/ml.

Les meilleures zones d'inhibition ont été enregistrées pendant les mois de février, mai et décembre avec des zones d'inhibition de 8.5, 8 et 8.5 mm, respectivement. Ces résultats sont différents par rapport aux travaux d'**Ainane** (2011) sur l'extrait hexanique du mois de février de *C. tamariscifolia*, récoltée de la plage marocaine. Ces auteurs ont démontré l'absence de l'activité antibactérienne contre *S. aureus* à raison de 50 µl d'extrait par disque.

Par contre, les travaux de **Yong-Xin et ses collaborateurs** (**2011**) ont montré l'existence d'un effet inhibiteur contre *S. aureus* par l'extrait des phlorotannins des algues brunes. L'identification de cette classe a révélé la présence des molécules bioactive de type dieckol et 8,8' bieckol.

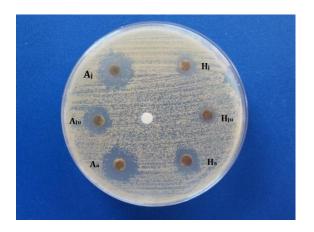


Photo 6: Activité antimicrobienne des extraits acétonique et hexanique sur *Staphylococcus aureus* par la méthode des disques. Aj : Acétone du mois de Juin ; Aju : Acétone Juillet ; Aa : Acétones Aout ; Hj : Hexane Juin ; Hju : Hexane Juillet ; Ha : Hexane Aout.

III.2. Effet inhibiteur des extraits acétonique et hexanique sur *Bacillus cereus* ATCC 10876

D'après la **figure 21**, l'activité antibactérienne contre la souche *B. cereus* pour l'extrait acétonique reste toujours la meilleure par rapport à celle reportée pour l'extrait hexanique.

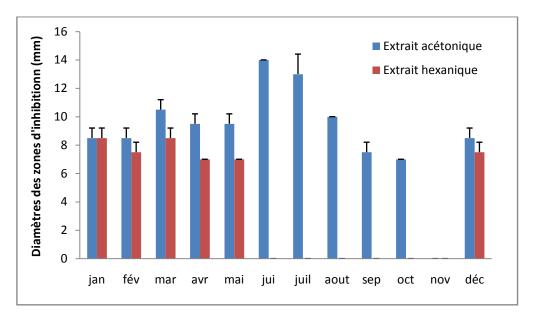


Figure 21. Diamètres des zones d'inhibition des extraits acétonique et hexanique sur la souche *Bacillus cereus*.

Une variation des diamètres des zones d'inhibition a été constatée pour les extraits acétonique et hexanique en fonction de la variation saisonnière (**Figure 22**). Pour le moi de mars, une bonne activité antibactérienne a été enregistrée avec des zones d'inhibition de 10.5 mm pour l'extrait acétonique et 8.5 mm pour l'extrait hexanique. Cette activité a diminué pour les deux mois qui suivent (Avril et Mai). Au mois du Juin, ce pouvoir atteint son maximum avec une valeur de 14 mm de diamètre pour l'extrait acétonique, mais il a continué à diminuer jusqu'à ce qu'il devient nul au mois de Novembre pour le même extrait. Durant cette période (juin à novembre), l'extrait hexanique n'a présenté aucun effet. Au mois de décembre, les deux extraits ont révélé la présence de l'activité antibactérienne avec des valeurs de 8.5 et 7.5 mm pour les extraits acétonique et hexanique, respectivement.

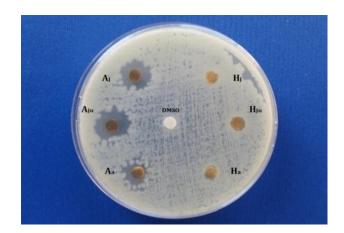


Photo 7: Activité antimicrobienne des extraits acétonique et hexanique sur *B.cereus* par la méthode des disques. Aj : Acétone du mois de Juin ; Aju : Acétone Juillet ; Aa : Acétones Aout ; Hj : Hexane Juin ; Hju : Hexane Juillet ; Ha : hexane Aout.

Reichelt et al. (1984) et Ballantine et al. (1987) ont montré que la fréquence la plus élevée de l'activité antimicrobienne des extraits algaux était observée sur les bactéries Gram positif dans la plus part des enquêtes. Cette confirmation est en accord avec nos résultats sur les bactéries Staphylococcus aureus et Bacillus cereus.

III.3. Effet inhibiteur des extraits acétonique et hexanique sur *Candida albicans* ATCC 26790

D'après la **figure 22**, une variation des zones d'inhibition de l'activité antifongique en fonction de la variation saisonnière pour les deux extraits acétonique et hexanique a été observée.

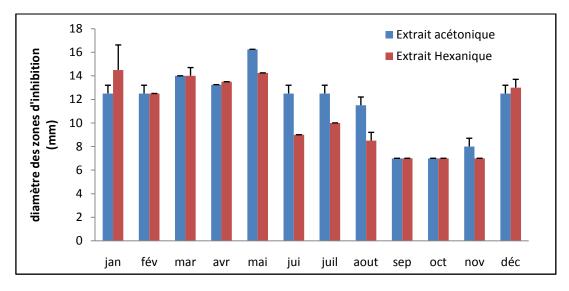


Figure **22.** Diamètres des zones d'inhibition des extraits acétonique et hexanique sur *Candida albicans*.

Pour l'extrait hexanique, le mois de janvier a la meilleure zone inhibition avec un diamètre de 14.5 mm, alors que pour l'extrait acétonique, la meilleure zone d'inhibition a été constatée pendant le mois mai avec une valeur de 16.25 mm. Cette activité a commencé à diminuer à partir du mois d'août pour les deux extraits jusqu'au mois de novembre (7 mm).

Au mois de décembre, une bonne activité antifongique a été constatée avec la production d'une bonne zone d'inhibition pour les deux extraits acétonique (12 mm) et hexanique (13 mm).

Le résultat de l'effet inhibiteur de notre extrait hexanique de *C. stricta* contre *C.albicans* a été prouvé par l'étude de **Guven** *et al.* (2006) pour le même extrait de *C. barbata* des mois de septembre et novembre avec un diamètre de 16 mm à la concentration 4 mg/ml. Par contre, les travaux de Ünci *et al.* (2006) ont révélé que 25 µl d'extrait acétonique / disque du mois de mais de l'algue *C. mediterranea*, récoltée de la côte de la Türkiye n'a montré aucun effet inhibiteur contre *C. albicans*.

Les extraits acétonique et hexanique ont exercé un effet antifongique presque égal sur *C. albicans*, ce qui est différent par rapport à l'effet antibactérien sur *S. aureus* et *B. cereus* òu l'extrait acétonique a le meilleur effet.

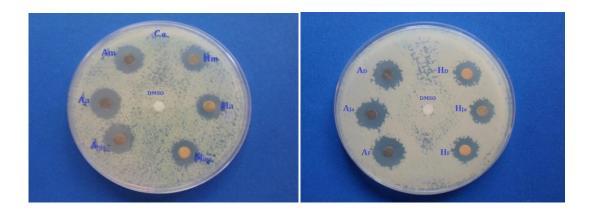


Photo 8: Activité antimicrobienne des extraits acétonique et hexanique sur *C. albicans* par la méthode des disques. Am : Acétone de mois de Mars ; Aa : Acétone avril ; Am : acétone Mai ; Hm : Hexane Mars ; Ha : Hexane Avril ; Hma : Hexane Mai. AD : Acétone du mois de Décembre ; Aja : Acétone Janvier ; Af : Acétone février ; HD : Hexane décembre ; Hja : Hexane Janvier ; Hf : Hexane Février.

Nous pouvons déduire que l'activité antimicrobienne peut être influencée par plusieurs facteurs à savoir les variations saisonnières, l'espèce algale, la concentration de l'extrait, le type du solvant utilisé, la période de la récolte, la méthode d'extraction, les facteurs extrinsèques, les souches pathogènes testées et la variabilité intraspécifique dans la production de métabolites secondaire.

La résistance des bactéries aux antibiotiques reste aujourd'hui un problème majeur de santé publique. La pression de sélection exercée par l'utilisation importante de l'antibiothérapie et la diffusion épidémique des souches résistantes sont les deux facteurs principaux conditionnant cette évolution.

Le présent travail a porté sur l'étude du pouvoir antimicrobien des extraits bruts acétonique et héxanique de l'espèce algale *Cystoseira stricta* qui appartient à la famille de Sargassacées contre six souches bactériennes (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Micrococcus luteus*) et une levure *Candida albicans*.

Les résultats obtenus nous ont permis de conclure que :

- ✓ L'activité antimicrobienne est influencée par la variation saisonnière ;
- ✓ Les mois de janviers, mars, avril, mai, juin et juillet sont les plus actifs ;
- ✓ L'extrait acétonique s'est montré plus actif contre les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*.
- ✓ Les deux extraits des deuze mois ont un puissant pouvoir antifongique contre Candida albicans.

Ce travail ne présente qu'un premier pas dans la recherche des molécules actives antimicrobiennes. Il nous a conduit à affirmer que l'algue brune *Cystoseira stricta* qui été récoltée de la côte ouest Algérien peut éventuellement remplacer les antibiotiques les moins efficaces et surtouts les antifongiques où cette espèce a montré un effet fongistatique remarquable durant douze mois.

Pour cela, il serait important de faire un screening plus complet des principaux groupes chimiques potentiellement actifs de *Cystoseira stricta* et de réaliser des études complémentaires en renforçant l'antibiothérapie en pathologie médicale. De même l'évaluation des activités biologiques de cette espèce algale d'Algérie représente un sujet d'intérêt thérapeutique.

- ❖ Agardh, C. (1820) Species algarum rite cognitae, cum synonymis, differentiis specificis descriptionius succintis : officina Berlingiana. 1(1):168.
- ❖ Ainane, T. (2011). Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes Cystoseira tamariscifolia et Bifurcaria bifurcata. *Thèse de Doctorat en chimie Analytique*, Université Hassan II- Casablanca, Maroc.
- ❖ Akpan, A., Morgan, R. (2002). Oral candidiasis. *Postgrad Med J* 78: 9-455.
- ❖ Amico, V., Oriente, G., Piattelli, M., Ruberto, G., Tringali, C. (1982). A quinone-hydroquinone couple from the brown alga *Cystoseira stricta*. *Phytochemistry*, 21 (2): 421-424.
- **❖ Amigo, V., Cunsolo, F., Piattelli, M., Ruberto, G.** (1987). Prenylated 0-Methyltoluquinols from *Cystoseira stricta*. *Phytochemistry*, 26 (6): 1719-1722.
- **❖ Amsler, C.D., Fairhead, V.A. (2006).** Defensive and Sensory chemical ecology of brown algae. *Adventer. Botanical Res*, 43: 1-91.
- **❖ Atwal, R. (2003).** In vitro Antimicrobial Activity Assessment of Zymox *Otic* solution against a broad range of microbial organisms. *Int. Journal of Res. Veterinary Medicinal*, 1 (3): 240-252.
- ❖ Avril, J-L., Fauchère, J-L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ed .Ellipses. p141.

В

- Ballantine, DL., Gerwick, W-H., Velez, S-M., Alexander, E., Guevara, P. .(1987). Antibiotic activity of lipid-soluble extracts from caribbean marine algae. Hydrobiologia, 151/152:463-469.
- ❖ Bannerman, T., Peacock, S. J. (2007). Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase Positive Cocci. In Murray, P.R., E. J., Baron, J. H., Jorgensen., Landry, M. L., M, A. Ed. Manual of Clinical Microbiology, (9th) Ed Washington, USA: ASM Press. p390-404.

- * Baraniak, A., Fiett, J., Sulikowska, A., Hryniewicz, W., Gniadkowski, M. (2009). Countrywide spread of CTX-M-3 extended-spectrum β-lactamase producing microorganisms of the family Enterobacteriaceae in Poland. *Antimicrob Agents Chemother*, 46:151-9.
- ❖ Boudouresque, C.F. (2004). Marine biodiversity in the Mediterranean: status of species, populations and communities. Travaux Scientifiques du Parc National De Port-Cros 20: 97–146.
- ❖ Boulekbache-Makhlouf, L., Slimani, S., Madani, K. (2013). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 41:85–89.
- ❖ Broadasky, T., Lewis, C., Eble, T.E. (1976). Bioautographic thin layer chromatophic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. Clindamycin in the *rat. Journal of Chromatogr*, 123(3): 33-44.

 \boldsymbol{C}

- ❖ Cabioc'h, J; Floch, J-Y; Le Toquin, A; Boudouresque, C; Meinesz, A; Verlaque, M. (2006). Guide des algues des mers d'Europe, manche, atlantique, méditerranée, Les guides du naturaliste, Ed. Delachaux et Niestle, p272.
- Casfm, R., Bonnet., Caron, F., Cavallo, J.D., Chardon, H., Chidiac, C., Courvalin, P; Drugeon, H., Dubreuil, L., Jarlier, V., Jehl, F., Lambert, T., Leclercq, R., Nicolas-chanoine, M.H., Plesiat, P., Ploy, M; Quentin, C; Soussy, E; Varon., Weber, P.(2012). Comite de l'antibiogramme de la societe française de microbiologie. p9-10-11.
- ❖ Cattoir, V. (2008).Les nouvelles beta-lactamines à spectre étendu (BLSE). Pathologie infectieuse en réanimation. p 208.
- ❖ Smith-Cavalier, T. (2004). Only six kingdoms of life. Proceedings of the Royal Society . *Biological Sciences*, 271:1251-1262.
- **♦ Cho, GY., Rousseau, F., De Reviers, B., Boo, S.M.(2006)**. Phylogenetic relationships within the Fucales (Phaeophyceae) assessed by the photosystem I coding *psa*A sequences. *Phycologia*, 45: 512-519.

- Choreh, F., Kieran, J., Frederic, A., Kathleen, G., Hanne, O., Klaus, H., Marc, H., Joerg, H., Denise, L., Stephane, M., Sylvie, M., Karen, V., Olivier, C., Sabrina, R., Delphine, Thevenot, R. C., Koen, D.R., Alexander, G. (2013). Review of Shiga-toxin-producing Escherichia coli (STEC) and their significance in dairy production. *Journal of Food Microbiology*, 162(2):190–212.
- Chuang, Y.P., Fang, C.T., Lai, S.Y., Chang, S.C., Wang, J.T. (2006). Genetic determinants of capsular serotype K1 of *Klebsiella pneumoniae* causing primary pyogenic liver abscess. *Journal of Infection Disease* 193 (5):645-54.
- Ciobotaro, P., Oved, M., Nadir, E., Bardenstein, R., Zimhony, O.(2011). An effective intervention to limit the spread of an epidemic carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae strain in an acute care setting: from theory to practice. Journal of Infection Control, 39(8):671-7.
- **❖ Coleman, M.A., Brawley, S.H.**(2005). Are life history characteristics good predictors of genetic diversity and structure? A case study of the intertidal alga Fucus spiralis (Heterokontophyta; Phaeophyceae). *Journal of Phycology*, 41(2): 753−762.
- Cormaci, M., Furnari, G., Catra, M., Alongi, G., Giaccone, G.(2012). Flora marina bentonica del Mediterraneo: Phaeophyceae. *Bollettino dell'Accademia Gioenia di Scienze Naturali di Catania*, 45(2):508.
- Costa, F., Manaia, C.M., Figueiral, M.H., Pinto, E.(2008). Genotypic analysis of Candida albicans isolates obtained from removable prosthesis wearers. *Letteratur* Applied Microbiology, 46(1): 9-445.

 \boldsymbol{D}

- ❖ De Reviers, B. (2003). Biologie et Phylogénie des algues. Tome 1. Ed. Belin, Paris, p255.
- ❖ Delepine, C., Boudouresque, C.F., Fradaorestano, C., Noailles, M.C., Asensia, A.(1987). Algues et autres végétaux marins . Fiche FAO d'identification des espèces pour le besoin de la pèches, Révision Méditéranée et mer noir , zone de pèche 37. Volume 1. Végétaux et invertébré.

 \boldsymbol{E}

- ❖ El hassouni, H ., Driss, A ., Gnaouat, H ., Dahmani, F., Bengueddour, R.(2013). Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de deux algues rouges, Osmundea pinnatifida et Gigartina acicularis. ScienceLib Editions Mersenne, 5 : 2111-4706.
- **Euzéby, J.P. (2005).** Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. p 200.

 \boldsymbol{F}

- ❖ Falshaw, R., Furneaux, R.H. (2005). Structural analysis of carrageenans from the red alga, *Callophyllis hombroniana* Mont. Kütz (Kallymeniaceae, Rhodophyta), Carbohydrate Research, Ed. *Stevenson*, 34:1149-1158.
- ❖ Floc'h, J.Y., Cabioc'h, J., Le Toquin, A., Boudouresque, C.F., Meinesz, A., Verlaque, M.(2006). Guide des algues des mers d'Europe. Edition, Delachaux et Niestlé, Paris. 272 p.

 \boldsymbol{G}

- ❖ Gómez-Garreta, A., Barceló, M.C., Gallardo, T.(2001).Flora Phycologica Iberica Vol. 1. Fucales. Université de Murcia.
- ❖ Guern, M.(1962). Embryologie de quelques espèces du genre Cystoseira Agardh 1821 (Fucales). Vie et Milieu. *Biologie Marine*, 13(2): 649–679.
- ❖ Guillaume, P.,(2010). Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes-Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de micro-organismes impliquées dans leur adhésion. *Thèsede Doctorat en biochimie de l'Université de La Rochelle.Paris*, p 29,30.
- Guiry, M.D., Guiry, G.M.(2009). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. http://www.algaebase.org, searched on 13 October 2009.

 \boldsymbol{H}

- ❖ Hillier, K., Rakkar, M.(2008). Alginic Acid, xPharmacy: The Comprehensive Pharmacology Reference.p1-3.
- * Hoffmaster, A., Hill, K., Gee, J., Marston, C., Popovic, T., Sue, D., Wilkins, P., Avashia, S., Drumgoole, R., Helma, C., Ticknor, L., Okinaka, R., Jackson, J. (2006). Characterization of *Bacillus cereus* isolates Associated with Fatal Pneumonias: Strains Are Closely Related to *Bacillus anthracis* and Harbor *B. anthracis* Virulence. *Journal of. Clinical Microbiology*, 44(9): 3352-3360.

I

- ❖ Iatrides, M., Artaud, J., Vicente, N.(1983). Composition en stérols de végétaux marins méditerranéens, *Oceanologica Acta*, 6 (3): 73-77.
- ❖ Ibrahima, N. (1995). Etude structurale, dégradation et synthèse biomimétique de métabolites secondaires isolés d'organisme de la côte sénégalaise, proposition de nouveau processus biogénétique . Thèse de doctorat en chimie, Université Cheiki Anta Diop de Dakar. Sénégale.
- ❖ Iddou, A., Hadj Youcef, M., Aziz, A., Ouali, M. (2011). Biosorptive removal of lead (II) ions from aqueous solutions using *Cystoseira stricta* biomass: Study of the surface modification effect. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15: 83-88.

 \boldsymbol{J}

❖ Jouve, J., Coord. (1996).la qualité microbiologique des aliments, maitrise et critères, *Polytechnique.Paris*. p23.

K

- ❖ Kassis-chikhani, N.(2012). Klebsiella pneumoniae pathogène nosocomial résistante et virulence. thèse de doctorat en microbiologie de l'université Pierre et Marie curie, p23.
- ❖ Kocur, M., Kloos, W., Schleifer, K.(2006). The Genus Micrococcus. In Dworkin, M.S., Falkow, E., Rosenberg, K. H., Schleifer, E. Stackebrandt (Ed), New York: Springer. 3^{eme} Ed., p 961-971.

Kornprobst, J.M.(2005). Substances naturelles d'origine marine: chimiodiversité, pharmacodiversité, biotechnologie, Ed. Lavoisier Librairie, p1800.

 \boldsymbol{L}

- **❖ Le Minor, L., Popoff, M.Y., Bockemuhl, J. (1990).** Supplement 1989 to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol* 141(3): 1173-1177.
- ❖ Lesueur, D., Serra,D., De Rocca., Bighelli, A., Hoi,T.M., Ban, N.K., Thai, T.H., Casanova, J.,(2007). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Merryll ex Dandy from Vietnam. *Journal*. Flavour and Fragrance, (22): 317-321.
- ❖ Lie, S., Abdou Fousam, K.(2002). Sensibilité et révolution de la résistance de Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques à l'hôpital du Point . Thèse de doctorat en microbiologie. Paris. p15.

M

- Mesguiche, V., Valls, R., Piovetti, L., Banaigs, B.(1997). Meroditerpenes from Cystoseira stricta collected off the mediterranean coasts. Phytochemistrry, 45 (7): 1489-1494.
- **♦ Michel, f. (2005).**Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène alimentaire 2^{éme}édition .Ed. *Economica*. Paris.p31.
- Morère.J., Pujol, R. (2002). Dictionnaire raisonné de biologie. Ed. Frison-Roche, p1222.

0

- **♦ Odds, F.C.** (1994). Pathogenesis of Candida infections. *Journal American Academic Dermatol* 31(2):2-5.
- ❖ Ollivier, G. (1929). Etude de la flore marine de la Côte d'Azur. Annales de l'Institut Océanographique, Monaco 7: 54−173.

- ❖ Paul, V.J. (1987). Natural products chemistry and chemical defence in tropical marine algae of the phylum chlorophyta. *Bioorganism Marina Chemistry*. 1(2):1-29.
- Pellegrini, L., Pellegrini, M.(1971). Contribution à l'étude biochimique des Cystoseiracées Méditerranéennes I Cystoseira stricta (Mont.) Sauvageau. Botanica Marina, 14: 6-16.
- Pérez.R.(1997). Ces algues qui nous entourent. Ed. Ifremer, France, Plouzané, p272.
- Phillips, N., Burrowes, R., Rousseau, F., de Reviers, B., Saunders, G.W. (2008). Resolving evolutionary relationships among the brown algae using chloroplast and nuclear genes. *Journal of Phycology* 44(5): 394-405.

R

- **❖ Ragan, M.A., Glombitza, K.W.(1986).**Pholorotannins, brown algal polyphenols. Progess in *Phycological Research* 4(5):129-241.
- **❖ Rahal.(2011).**Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire .6 ^{éme} Edition. p25-26.
- **❖ Rinehart, K.** (1992). Secondary metabolites from marine organisms. *Ciba. Found. Symp*171:236-249.
- Rodríguez-Prieto, C., Ballesteros, E., Boisset, F., Afonso-Carrillo, J.(2013).Guía de las macroalgas y fanerógamas marinas del mediterráneo occidental, Ed. *Omega*, p 656.
- ❖ Rossignol, G.(2007). Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche hospitalière de *Pseudomonas fluorescens*: Activité hémolytique et variation phénotypique. *These de doctorat en microbiologie*. p7.
- Ruberto, G., Baratta1, M., Biondi1, D., Amico, V. (2001). Antioxidant activity of extracts of the marine algal genus *Cystoseira* in a micellar model system. *Journal of Applied Phycology*, 13(2): 403-407.

❖ Runhnke, M., Maschmeyer, G. (2002). Management of mycoses in patients with hematologic disease and cancer-review of the litterature. *Journal of Medecine.Res*, 7(1):227-35.

S

- ❖ Sabin, C. (2006). La lectine PA-IIL de *Pseudomonas aeruginosa* : Structure, affinité et spécificité pour des ligands naturels et glycomimétiques. *Thèse de doctorat en microbiologie*, p14.
- ❖ Smit, J.(2004). Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products, Journal of applied Pycology, 16(3):254-262.
- Souhaili, Z., Lagzouli, M., Faid, M., Fellat-zerrouck, K.(2005). Inhibition of growth and mycotoxins formation in moulds by marine algae *Cystoseira tamariscifolia*. African Journal of Biotechnology, 3 (1):71-75.
- ❖ Stewart.J, Kellett, N., Castro, D.(2003). The central nervous system and cardiovascular effects of levobupivacaine and ropivacaine 97:412-416.

 \boldsymbol{T}

- ❖ Targett, N., Arnold, T. (2001). Effects of secondary metabolites on digestion in marine herbivores. Ed. *Marine chemical ecology*. CRC Press, Boca Raton, p 391-411.
- **❖ Taskin, E., Jahn, R., Öztürk, M., Furnari, G., Cormaci, M.(2012).** Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 6(24): 2746-2751.
- ❖ Tony, Hart.,Paul.(2000).Atlas de poche de microbiologie.2^{éme}édition Ed. *Flammarion .Paris.*p.71.
- **❖ Tringali, C.(1997).**Bioactive metabolites from marine alga. *Current Organic Chemistry*, 1(4):375-394.

 \boldsymbol{U}

❖ Ünci, T.N., Bilge, H., Adirci, D., Atakan, S.(2006). Antimicrobial Activities of the Extracts of Marine Algae from the Coast of Urla (Üzmir, Turkey). *Turky Journal of Biologie*, 2 (30):71-175.

 \boldsymbol{V}

- ❖ Verlaque, M. (1975). Compte rendus de la première mission effectuée, sur la façade maritime du parc régional cors, par l'équipe photosociologie bentique marine de luminy. 17-22 février 1975. Document ronéotypé par le service ofsset . Université Aix Marseille II. Paris . P. 64.
- ❖ Veronique, L., Floc'h, J-Y. (2010).les secrets des algues. Edition : *Quae*. p 25.
- ❖ Vilain, S., Luo, Y., Hildreth, M., Brozel, V.(2006). Analysis of the Life Cycle of the Soil Saprophyte *Bacillus cereus* in Liquid Soil Extract and in Soil. *Applied Environmental Microbiology*, 72(7):4970–4977.

 \boldsymbol{W}

❖ Wijnands, L., Dufrenne, J., Zwietering ., Leusden, F.(2006). Spores from mesophilic *Bacillus cereus* strains germinate better and grow faster in simulated gastro-intestinal conditions than spores from psychrotrophic strains. International. *Journal.Food Microbiology*, 112 (2):120-128.

Y

- ❖ Yannick, V.(2010).Recherche de molécules non-toxiques actives en antifouling à partir d'organismes marins de Méditerranée. Thèse de Doctorat en chimie de l'Université du Sud Toulon.
- ❖ Yong-Xin, Li., Isuru, W., Yong Li., Se-Kwon, K.(2011). Phlorotannins as bioactive agents from brown algae . *Process Biochemistry*, 46 (2):2219–2224.

Site internetx

- http://www.ciriscience.org
- ♦ http://www.en.wikipedia.org/wiki/Image:EscherichiaColi_NIAID.jpg.
- http://www.ncbi.nlm.nih.org
- http://www.skywind.wkhc.ac.kr.
- https://www.google.com/search?newwindow=1&site=imghp&tbm=isch&source p&biw=1280&bih=644&q=micrococcus+luteus&oq=micrococcus+lu&gsimg.lute us.
- http://en.wikipedia.org/wiki/Image:EscherichiaColi_Niaid.jpg Escherichia coli: Scanning electron micrograph of Escherichia coli, grown in culture and adhered to a cover slip. Credit: Rocky Mountain Laboratories, Niaid, Nizh.
- * www.sante-medecine.commentcamarche.net.

Annexe I : Milieux de culture utilisée

A. Mueller Hinton Agar (MH):

Milieu de base (MH)38g
Caséine hydrolysé
Amidon
pH
B. Gélose Sabouraud
Peptone de gélatine
Glucose
Agar
pH5,6±0.
pH
C. Milieu Brain heart broth(BHB)
C. Milieu Brain heart broth(BHB) Solides de perfusion cérébrale
C. Milieu Brain heart broth(BHB) Solides de perfusion cérébrale
C. Milieu Brain heart broth(BHB) Solides de perfusion cérébrale
C. Milieu Brain heart broth(BHB) Solides de perfusion cérébrale

Annexe II : les colorants utilisés

A. Violet de gentiane au cristal

Violet de gentiane 10g (ou	5g)
Phénol	20g
Ethanol à 0.95100	cm ³
Eau distillée1	dm ³
B. Lugol	
Iode	5g
IO dure de potassium	10g
Eau distillée qsp	1g
Flacon brun	
C. Fuchsine de Ziehl Fuchsine bosique	10g
Phénol	50g
Ethanol 10	cm ³
Eau distillée1	dm ³

Annexe III : Rendement (%) en extrait bruts acétonique et héxanique de Cystoseira stricta.

Algue	Extraits	Rendement (%)
Cystoseira stricta	Acétonique	1.91
	Héxanique	3.37

Annexe IV : Résultats de l'antibiogramme exprimés en diamètres des zones d'inhibition (en mm).

Souches Antibiotiques	E. coli	K.pneum oniae	P.aeruginosa	M. luteus	S. aureus	B. cereus
Ampicilline	-	-	-	-	18	-
Bacitracine	-	-	-	-	-	-
Cefotaxime	30	27	18	40	30	-
Lincomycine	-	-	-	-	40	26
Pénicilline	-	-	-	-	49	-
Tétracycline	31	15	13	29	33	21
Vancomycine	-	-	-	9	24	21

^{(-):} Pas de zone d'inhibition.

Annexe V : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits acétonique et héxanique de l'algue, *Cystoseira stricta*. (Diamètres des zones d'inhibition en mm).

Les souches Extraits		S. aureus	B. cereus	C. albicans	K.pneumoniae	E. coli	P aeruginosa	M.luteus	DMSO
Janvier	Acétone	9.5±0.70	8.5±0.70	12.5±0.70	-	-	-	-	-
	Hexane	7.5±0.70	8.5±0.70	14.5±2.12	-	-	-	-	
Février	Acétone	10±0	8.5±0.70	12.5±0.70	-	-	-	-	-
	Hexane	8.5±2.12	7.5±0.70	12.5±0.70	-	-	-	-	-
Mars	Acétone	18.5±2.12	10.5±0.70	15±0.0	-	-	-	-	-
	Hexane	7±0	8.5±0.70	12.5±0.70	-	-	-	-	-
Avril	Acétone	15.5±0.70	9.5±0.70	16±0	-	-			-
	Hexane	7±0	7±0	13±0	-	-			-
Mai	Acétone	11±1.41	9.5±0	15±0	-	-			-
	Hexane	8±1.41	7±0	13±0	-				-
Juin	Acétone	14±0	14±0	12.5±0.70	-				-
	Hexane	0	0	9±0	-	-	-	-	-
Juillet	Acétone	15.5±0.70	13±1.41	12.5±0.70	-	-	-	-	-
	Hexane	0	0	10±0					-
Aout	Acétone	13.5±0.70	10	11.5±0.70	-	-	-	-	-
	Hexane	0	0	8.5±0.70					-
Septembr	Acétone	11±1.41	7.5±0.70	7.75±0	-	-	-	-	-
	Hexane	0	0	7±0	-	-	-	-	-
Octob r	Acétone	8.5±2.12	7±0	7±0	-	-	-	-	-
	Hexane	0	0	7±0	-	-	-	-	-
Novembr	Acétone	7.5±0.70	0	8±0.70	-	-	-	-	-
	Hexane	0	0	7±0	-	-	-	-	-
Décembre	Acétone	10.5±0.70	8.5±0.70	12.3±0.70	-	-	-	-	-
	Hexane	8.5±0.70	7.5±0.70	13±0.70	- 1 '1 '4'	-	-	-	-

(-): Pas de zone d'inhibition.

Résumé

Cette étude a pour but d'évaluer le pouvoir antimicrobien de deux extraits acétonique et hexanique d'une algue brune *Cystoseira stricta* qui appartient à la famille de Sargassacées. Cette espèce a été récoltée durant douze mois de la côte ouest Algérienne, plus exactement la plage de Madrid. Les six souches bactériennes testées sont *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* avec une levure *Candida albicans*.

Les résultats obtenus ont montré une action inhibitrice remarquable de l'extrait acétonique contre la bactérie à Gram positif S. aureus durant les mois de Mars $(18.5 \pm 2.12 \text{ mm})$, d'Avril et Juillet $(15.5 \pm 0.70 \text{ mm})$ et Juin $(14 \pm 0 \text{ mm})$. Pour le mois de Mai, l'extrait hexanique a montré une zone d'inhibition de $8 \pm 1.41 \text{ mm}$ pour la même souche. Cette action bactériostatique a été exercée aussi contre B. cereus avec des meilleures zones inhibition pendant les mois de Juin $(14 \pm 0 \text{ mm})$ et Janvier $(8 \pm 0.70 \text{ mm})$ pour les extraits acétonique et hexanique, respectivement. Pour les autres souches bactériennes testées les extraits bruts n'ont montré aucun effet inhibiteur.

Concernant la levure *Candida albicans*, les deux extraits ont un effet inhibiteur remarquable au mois de janvier (14.5 ± 0.70 mm) pour l'extrait hexanique et au mois de mai (16.25 ± 0.70 mm) pour l'extrait acétonique.

Mots clés: Algue brune, Cystoseira stricta, Extraits, Pouvoir antimicrobien.

Abstract

This study aims to evaluate the antimicrobial potency of both acetone and hexane extracts of brown seaweed Cystoseira stricta which belongs to the family of Sargassacées. This species was collected during twelve months of the Algerian west coast, more precisely the range of Madrid. The six bacterial strains tested were *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* with a yeast *Candida albicans*.

The results showed a remarkable inhibitory action of acetone extract against the Gram positive bacterium *S. aureus* during the month of March (18.5 \pm 2.12 mm), April and July (15.5 \pm 0.70 mm) and June (14 \pm 0 mm). For the month of May, the hexane extract showed inhibition 8 \pm 1.41 mm area for the same strain. The bacteriostatic action was also brought

against *B. cereus* with better inhibition zones during the month of June (14 ± 0 mm) and January (8 ± 0.70 mm) for acetone and hexane extracts, respectively. For other bacterial strains tested extracts showed no inhibitory effect.

For the yeast *Candida albicans*, the two extracts have a remarkable inhibitory effect in the month of January (14.5 ± 0.70 mm) for the hexane extract and the month of May (16.25 ± 0.70 mm) for the acetone extract.

Keywords: brown seaweed, Cystoseira stricta, Extracts, antimicrobial power.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم فاعلية مضادات الميكروبات كل من الأسيتون و الهكسان للطحلبة البحرية سيستوسيرا ستريكتا التي تنتمي إلى عائلة السارقاساسي وقد تم جمع هذا النوع خلال اثني عشر شهرا من الساحل الغربي الجزائري، على نحو أدق من شاطىء مادريد. السلالات البكتيرية المختبرة الستة هي الإشريكية القولونية، الكلبسيلة الرئوية، الزائفة الزنجارية، ميكروكوكس لوتيس، الشمعية العصوية والمكورات العنقودية الذهبية و الخميرة كونديدا البيكانس.

أظهرت النتائج وجود عمل المثبطة ملحوظا من الأسيتون استخراج ضد البكتيريا المكورة العنقودية البرتقالية خلال شهر مارس (11 ± 0.0 مم) وحزيران (11 ± 0.0 مم)، نيسان وتموز (11 ± 0.0 مم).

أما فيما يخص البكتيريا الشمعية العصوية كانت النتائج ملحوظة من خلال عملية التثبيط لمستخلص الاستون في شهر يوليو . (8 ± 0.75 مم) و (8 ± 0.75 مم) لشهر كانون الثاني. أما السلالات البكتيرية الأخرى لم نلحض اى تثبيط.

أما الخميرة كونديدا البيكانس لها تأثير مثبط ملحوظا في شهر كانون الثاني $(14.5 \pm 0.75 \pm 0.70 \, \text{م})$ لمستخلص الهكسان و $(16.25 \pm 0.70 \, \text{m})$ لمستخلص الأستون لشهر مايو.

الكلمات الرئيسية الطحلب البحرية، سيستوسيرا ستريكتا ، شاطئ مدريد، مستخلص ، مضادات البكتيريا.

Résumé

Cette étude a pour but d'évaluer le pouvoir antimicrobien de deux extraits acétonique et hexanique d'une algue brune Cystoseira stricta qui appartient à la famille de Sargassacées. Cette espèce a été récoltée durant douze mois de la côte ouest Algérienne, plus exactement la plage de Madrid. Les six souches bactériennes testées sont Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus et Bacillus cereus avec une levure Candida albicans.

Les résultats obtenus ont montré une action inhibitrice remarquable de l'extrait acétonique contre la bactérie à Gram positif S. aureus durant les mois de Mars (18.5 ± 2.12 mm), d'Avril et Juillet (15.5 ± 0.70 mm) et Juin (14 ± 0 mm). Pour le mois de Mai, l'extrait hexanique a montré une zone d'inhibition de 8 ± 1.41 mm pour la même souche. Cette action bactériostatique a été exercée aussi contre B. cereus avec des meilleures zones inhibition pendant les mois de Juin (14 ± 0 mm) et Janvier (8 ± 0.70 mm) pour les extraits acétonique et hexanique, respectivement. Pour les autres souches bactériennes testées les extraits n'ont montré aucun effet inhibiteur. Pour la levure Candida albicans, les deux extraits ont un effet inhibiteur remarquable au mois de Janvier (14.5 ± 0.70 mm) pour l'extrait hexanique et le mois de Mai (16.25 ± 0.70 mm) pour l'extrait acétonique.

Mots clés: Algue brune, Cystoseira stricta, Extraits, pouvoir antimicrobien.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم فاعلية مضادات الميكروبات كل من الأسيتون و الهكسان للطحلية البحرية سيستوسيرا ستريكتا التى تنتمي إلى عائلة السارقاساسى وقد تم جمع هذا النوع خلال اثني عشر شهرا من الساحل الغربي الجزائري، على نحو أدق من شاطىء مادريد. السلالات البكتيرية المختبرة الستة هى الإشريكية القولونية، الكلبسيلة الرئوية، الزائفة الزنجارية، ميكروكوكس لوتيس، الشمعية العصوية والمكورات العنقودية الذهبية و الخميرة كونديدا البيكانس أظهرت النتائج وجود عمل المثبطة ملحوظا من الأسيتون استخراج ضد البكتيريا المكورة العنقودية البرتقالية خلال شهر مارس (18.5 ±12.2مم)وشهر افريل و جويلية (15.5 ±0.70 مم) و شهر جوان (14 ±0.0 مم) اما بالنسبة لمستخلص الهكسان اضهرت الدراسة و جود عمل تثبيطي فيما يخص شهر ماى (14.1 مم) و شهر جانفي . أما فيما يخص البكتيريا الشمعية العصوية كانت النتائج ملحوظة من خلال عملية التثبيط لمستخلص الاستون في شهر جوان (14.0 مم) و شهر جانفي . (8 ±15.1 مم) لمستخلص المستخلص الاستون و الاكسان على التوالى. أما فيما يتعلق بالسلالات البكتيرية الأخرى لم نلحض اى تثبيط أما الخميرة كونديدا البيكانس كان تأثير مستخلص الطحلبة البنية سيستوسيرا ستريكتا ملحوضا خاصة في شهر جانفي (14.5 ± 7.50مم) لمستخلص الهكسان وفي شهر ماى (16.25 ±0.70مم) بالنسبة لمستخلص الطحلبة البنية سيستوسيرا ستريكتا ملحوضا خاصة في شهر جانفي (14.5 ± 7.50مم) لمستخلص الهكسان وفي شهر ماى (16.25 ±0.70مم) بالنسبة لمستخلص الاسيتون .

الكلمات الرئيسية الطحلب البنية ، سيستوسير استريكتا، مستخلص، مضادات البكتيريا

Abstract

This study aims to evaluate the antimicrobial potency of both acetone and hexane extracts of brown seaweed Cystoseira stricta which belongs to the family of Sargassacées. This species was collected during twelve months of the Algerian west coast, more precisely the range of Madrid. The six bacterial strains tested were *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa, Micrococcus luteus, Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* with a yeast *Candida albicans*.

The results showed a remarkable inhibitory action of acetone extract against the Gram positive bacterium *S. aureus* during the month of March $(18.5 \pm 2.12 \text{ mm})$, April and July $(15.5 \pm 0.70 \text{ mm})$ and June $(14 \pm 0 \text{ mm})$. For the month of May, the hexane extract showed inhibition $8 \pm 1.41 \text{ mm}$ area for the same strain. The bacteriostatic action was also brought against *B. cereus* with better inhibition zones during the month of June $(14 \pm 0 \text{ mm})$ and January $(8 \pm 0.70 \text{ mm})$ for acetone and hexane extracts, respectively. For other bacterial strains tested extracts showed no inhibitory effect. For the yeast *Candida albicans*, the two extracts have a remarkable inhibitory effect in the month of January $(14.5 \pm 0.70 \text{ mm})$ for the hexane extract and the month of May $(16.25 \pm 0.70 \text{ mm})$ for the acetone extract.

Keywords: brown seaweed, Cystoseira stricta, Extracts, antimicrobial power.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم فاعلية مضادات الميكروبات كل من الأسيتون و الهكسان للطحلبة البحرية سيستوسيرا ستريكتا التى تنتمي إلى عائلة السارقاساسى وقد تم جمع هذا النوع خلال اثني عشر شهرا من الساحل الغربي الجزائري، على نحو أدق من شاطىء مادريد. السلالات البكتيرية المختبرة الستة هى الإشريكية القولونية، الكلبسيلة الرئوية، الزائفة الزنجارية، ميكروكوكس لوتيس، الشمعية العصوية والمكورات العنقودية الذهبية و الخميرة كونديدا البيكانس.

أظهرت النتائج وجود عمل المثبطة ملحوظا من الأسيتون استخراج ضد البكتيريا المكورة العنقودية البرتقالية 2.12مم). $(2.12\pm0.0$ نيسان وتموز)مم $(2.51\pm0.0$ وحزيران) (2.10مم (2.10 ± 0.0) شهر مارس(

أما فيما يخص البكتيريا الشمعية العصوية كانت النتائج ملحوظة من خلال عملية التثبيط لمستخلص الاستون في شهر يوليو (14±0.0 مم) و (8±0.75 مم) لشهر كانون الثاني. أما السلالات البكتيرية الأخرى لم نلحض اى تثبيط.

أما الخميرة كونديدا البيكانس لها تأثير مثبط ملحوظا في شهر كانون الثاني (14.5 ± 0.75 مم) لمستخلص الهكسان و $(0.25 \pm 0.70 \pm 0.70)$ مم) لمستخلص الأستون لشهر مايو.

الكلمات الرئيسية الطحلب البحرية، سيستوسيرا ستريكتا ، شاطئ مدريد، مستخلص ، مضادات البكتبر با