

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

Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Mémoire
En vue d'obtenir le diplôme de
Master en biologie
Spécialité : Microbiologie fondamentale

Sur le thème

**Contribution à l'étude de l'effet anti-biofilm des extraits
bruts des algues rouges**

Présenté par : Mlle OUCHFOUN Imene

Soutenue publiquement le 23 juin 2024 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mlle TRIQUI Chahinez	Maitre Assistant A	Université de Tlemcen	Présidente
Mlle MEZIANI Zahira	Maitre Assitant B	Université de Tlemcen	Examinatrice
Mlle LEMERINI Wafaa	Maitre de Conférence A	Université de Tlemcen	Rapporteur

*Laboratoire de chimie organique substances naturelles et analyses (COSNA) et le laboratoire de microbiologie
appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement (LAMAABE)*

2023-2024

Remerciement

Avant d'entamer le détail de mon projet de fin d'étude, je dois remercier, Dieu le tout puissant de me donner la santé, la volonté, la patience et la persévérance pour initier et terminer ce travail.

*Je commence à remercier profondément mon encadrant pédagogique **Mme LEMERINI Wafaa** de m'avoir donné le privilège d'encadrer mon travail, pour son soutien permanent inaltérable, sa disponibilité et surtout ses conseils. C'est un vrai exemple de générosité, modestie et gentillesse.*

Je suis honorée d'avoir été son étudiante durant ces dernières années.

Mon remerciement s'adresse également à tous les membres de jury pour l'honneur d'accepter d'assister à ma soutenance, de lire ce manuscrit et d'évaluer ce modeste travail.

*Je tiens à exprimer ma gratitude envers mon professeur **Mr BELYAGOUBI Larbi** pour son soutien moral et matériel et sa contribution précieuse à la réalisation de ce travail. Ainsi que **Dr. BENGUEDDA Wacila** pour son aide à l'identification des échantillons des algues.*

*Aussi, je tiens à remercier le doctorant **Mr ZATLA Ilyas** pour ses encouragements et sa rigueur ainsi que **Mlle FELLAHI Manel** pour son soutien, ses conseils et son aide pendant toute la durée de réalisation de ma pratique au laboratoire.*

J'exprime mes vifs remerciements à tous mes enseignants de la faculté des Sciences Biologiques pour la qualité d'étude.

Je tiens à remercier notamment tout le personnel du laboratoire de chimie organique substances naturelles et analyses (COSNA) et le laboratoire de microbiologie appliquée à l'agronomie, au biomédical et à l'environnement (LAMAABE) pour leur accueil.

Enfin, je maintiens à manifester toute ma gratitude à tous ceux qui m'ont soutenu et aidé de près ou de loins pour réaliser ce travail.



Dédicace

Je dédie cet évènement marquant dans ma vie accompagné d'un profond amour :

À moi-même en qui je croyais, pour ma persévérance et mes capacités à surmonter les difficultés pour atteindre mes objectifs .

À mes chers parents pour leur soutien, leur patience, l'amour, qui n'ont jamais cessés de prier pour moi et pour leur sacrifices afin que rien ne déroule mes études .

À ma chère soeur Amina et son fils Anes, à mes frères Chaouki et Mohammed pour leur encouragement et qui n'ont pas cessés de me conseiller.

À tous mes amis (es) et surtout mes meilleures :
Amel, Nour, Nada, Israa

À tous ceux qui me connaissent

Pour tous ceux qui m'aiment et que j'aime

Duchfoun. Jmene

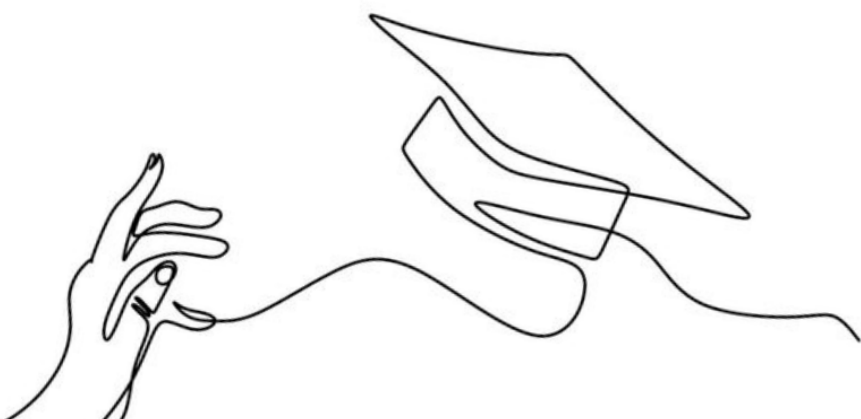


Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION	2
I. LES BIOFILMS	6
I.1. Historique	7
I.2. Les étapes de formation	8
I.2.1. Adhésion initiale réversible	8
I.2.2. Adhésion irréversible	9
I.2.3. La maturation	9
I.2.4. La dispersion de biofilm	10
I.3. Les facteurs formatrices des biofilms	10
I.3.1. Les propriétés de la cellule	10
I.3.2. Quorum sensing (QS)	10
I.3.3. La nature de substrat	11
I.3.4. Température	11
I.3.5. Hydrodynamique	11
I.4. Lieux d'apparence des biofilms	12
I.4.1. Les milieux industriels	12
I.4.2. Les milieux hospitaliers	13
I.5. La résistance aux agents antimicrobiens	13
I. LES ALGUES	22
I.1. Les algues rouges	24
I.2. Habitat et les conditions de vie	24
I.2.1. Habitat	24
I.2.2. Les conditions de vie	25
I.3. Le cycle de vie des algues rouges	25
I.3.1. Tétrasporephyte	26
I.3.2. Carposporephyte	26
I.4. La composition chimique des algues rouges	27

I.4.1. Les protéines	27
I.4.2. Les polysaccharides	28
I.4.3. Les lipides	30
I.4.4. Les métabolites secondaires	30
I.5. L'activité biologique	31
I.5.1. Antivirales	31
I.5.2. Antimicrobienne	32
I.5.3. Anticancéreuse	32
<i>I. La récolte</i>	36
<i>II. L'identification</i>	36
<i>III. Conservation des échantillons</i>	37
<i>IV. Extraction par macération</i>	37
IV.1. Matériels et produits utilisés	38
IV.2. Le mode opératoire	38
IV.2.1. Préparation de l'extrait par les différents solvant	38
IV.2.2. La filtration	38
<i>V. Test anti-biofilm des extraits des algues rouges</i>	40
V.1. Définition de Quorum Quenching	41
V.2. Le mécanisme d'action	41
V.3. Mode opératoire de l'anti-biofilm	41
V.3.1. Les souches bactériennes utilisées	41
V.3.2. La revivification des souches bactériennes	42
V.3.3. Calibrage des souches	42
V.3.4. Préparation des extraits des algues rouges	42
V.3.5. La méthode des plaques de TCP (Plaque de culture de tissus)	42
<i>I. Les extraits bruts des algues rouges</i>	45
<i>II. L'effet anti-biofilm des extraits des algues rouges</i>	47
II.1. Les souches bactériennes	47
II.2. L'effet anti-biofilm de la souche <i>Staphylococcus aureus</i>	50
II.3. L'effet anti-biofilm de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52

<i>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</i>	54
<i>Les références bibliographiques</i>	59
<i>Résumer</i>	67

Liste des abréviations

%	: Pourcentage
°C	: Degré celsius
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AHLs	: N-acyle homo-serine lactone
AI	: Auto-inducteurs
AI-2	: Auto-inducteur 2
APC	: L'allophycocyanine
AQS	: Anti-quorum sensing
ARN	: Acide ribonucléique
BHIB	: Bouillon cœur cervelle
C8-HSL	: N-octanoyl-L-homosérine lactone
Ca²⁺	: Ion de calcium
CaSR	: Des récepteurs sensibles au calcium
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
CV	: Crystal violet
DENV-2	: Virus de la dengue de type 2
DO	: Densité optique
EPA	: Acide eicosapentaénoïque
EPS	: Matrice exo-polysaccharidique
FOA	: L'organisation des nations unies pour les aliments et l'agriculture
g	: gramme
HSV-1	: Virus de l'herpès simplex de type 1
HSV-2	: Virus de l'herpès simplex de type 2
KDa	: kilodeltons
KSL	: Lectine de <i>Kappaphycus striatus</i>
LPS	: Les lipopolysaccharides
mg	: Milligramme
mg/ml	: Milligramme par millilitre
min	: Minute
ml	: Millilitre
mm	: Millimètre

nm	: Nannomètre
OMS	: L'organisation mondiale de la santé
PC	: La phycoocyanine
PE	: La phycoérythrine
pH	: Potentiel hydrogène
QQ	: Quorum quenching
QS	: Quorum sensing
TCP	: Plaque de culture de tissus
UFC	: Unité formant colonie
VIH	: Virus de l'immunodéficience humaine
VNC	: Viable non cultivable
VPH	: Papillomavirus
µl	: Microlitre
µm	: Micromètre

Liste des figures

Figure 1. Une micrographie électronique à balayage d'un biofilm développé sur une surface 10 µm	6
Figure 2. Historique de la découverte des biofilms	7
Figure 3. Schéma représente les étapes de formation d'un biofilm	8
Figure 4. Photographie des algues vertes <i>Ulva pertusa</i>	22
Figure 5. Photographie des algues marines brunes <i>Sargassum fusiforme</i>	23
Figure 6. Photographie des algues marines rouges <i>Gloiopeltis furcata</i>	23
Figure 7. Schémas représentatif la zonation des algues marines	24
Figure 8. Schéma représente le cycle de reproduction d'une algue rouge <i>Asparagopsis taxiformis</i>	26
Figure 9. Une structure de la molécule isoprène	31
Figure 10. Carte géographique de la région de Beni Saf – Ain Témouchent	36
Figure 11. Des échantillons des algues rouges	36
Figure 12. Les étapes de conservation des algues rouges	37
Figure 13. Filtration des extraits des algues rouges	38
Figure 14. L'évaporateur rotatif	39
Figure 15. Schéma qui résume les étapes de l'extraction de l'extraits brut des algues rouges	40
Figure 16. Diagramme circulaire montre les pourcentages des solvants utilisés pour les extraits des algues rouges. 1 : méthanol, 2 : l'éthanol et 3 : l'eau	46
Figure 17. Histogramme représente les mesures de la densité optique (490 nm) des souches bactériennes <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> et le bouillon BHIB stérile	48
Figure 18. Histogramme montre la moyenne de la densité optique à 490nm des souches bactériennes comparer avec le bouillon BHIB stérile. 1 : le bouillon BHIB stérile, 2 : la souche de <i>S. aureus</i> et 3 : la souche de <i>P. aeruginosa</i>	49
Figure 19. Histogramme de l'activité anti-biofilm de différents solvants contre <i>S. aureus</i>	50
Figure 20. La moyenne de la densité optique mesurée à 490nm pour l'activité anti-biofilm de différents solvants contre <i>S. aureus</i> , 1 : BHIB stérile, 2 : <i>S. aureus</i> , 3 : le méthanol, 4 : l'éthanol et 5 : l'eau distillée	51
Figure 21. Histogramme de l'activité anti-biofilm de différents solvants contre <i>P. aeruginosa</i>	53

Figure 22. La moyenne de la densité optique mesurée à 490 nm pour l'activité anti-biofilm de différents solvants contre *P. aeruginosa*, 1 : BHIB stérile, 2 : *P. aeruginosa*, 3 : Le méthanol, 4 : l'éthanol et 5 : l'eau distillée

Liste des tableaux

Tableau 1. Rendement et caractéristéque des extraits bruts des algues rouges _____	45
Tableau 2. La densité optique à 490nm des extraits des algues rouges obtenus par les différents solvants _____	46
Tableau 3. Mesure la densité optique des souches bactériennes et le bouillon de la culture stériles par le test Éliisa _____	48
Tableau 4. Mesure de la densité optique des différents extraits obtenus contre le pathogène humain <i>Staphylococcus aureus</i> (activité anti-biofilm) _____	50
Tableau 5. Mesure de la densité optique des différents extraits obtenus contre le pathogène humain <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (activité anti-biofilm). _____	53

Introduction

INTRODUCTION

Les algues (macro-algues) sont des organismes photosynthétiques qui possèdent un rôle remarquable dans l'écosystème aquatique, allant des eaux marines aux les eaux douces (**Egan *et al.*, 2013**) car elles contribuent à l'oxygénation de notre planète aussi une source alimentaire importante. Elles sont caractérisées par leurs résistances dans les divers stress environnementaux grâce à leur propriété physico-chimique, la physiologie et le cycle de vie unique (**Chan *et al.*, 2006**). Les macro-algues sont divisées en trois groupes principaux selon leurs pigmentations (les algues rouges, les algues brunes et les algues vertes) ce qui forme une large gamme très rependue dans les milieux industrielles, cométiques, médicales et agro-alimentaires.

Les algues rouges ou Rhodophytae se trouvent dans les zones intertidales des eaux profondes. Elles sont très riches en molécules bioactifs tels que les polysaccharides, les phycobiliprotéines, lectine et les métabolites secondaires. Ce qui confère de nombreuses activités biologiques bénéfiques comme des antibiotiques, antitumorales et même antivirales ce qui les rendent très intéressantes pour la recherche scientifique.

Les infections dans les milieux hospitaliers sont causées par le développement des biofilms. Les biofilms sont des communautés des microorganismes complexes adhérents entre eux sur une surface tel que les prothèses et les matériaux médicaux, ce qui provoque des infections persistantes chez les patients difficiles à traiter en raison de leur résistance puissante des agents antimicrobiens et au système immunitaire. Par exemple, des études ont montré que la concentration minimale d'antibiotiques requise pour éliminer les bactéries en biofilm est environ 100 à 1000 fois plus élevée que celle nécessaire pour leurs homologues planctoniques (**Stewart et Costerton, 2001**).

Les biofilms peuvent se développés également dans les secteurs industriels et provoquent des infections ou des intoxications chez les consommateurs et induit même la perte de la qualité marchande des produits finis.

Les échecs thérapeutiques croissants et les coûts de traitement de plus en plus élevés associés aux infections causées par des bactéries résistantes soulignent la nécessité de rechercher des alternatives de soins (Toty *et al.*, 2013).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet anti-biofilm des extraits bruts des algues rouges dans le but d'explorer un nouveau potentiel thérapeutique afin de lutter les infections bactériennes due à *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* associées aux biofilms et surtout dans les milieux hospitaliers.

La première partie de ce mémoire se compose de deux chapitres, le premier chapitre concentre sur l'étude bibliographique des algues marines surtout les algues rouges l'habitat, le cycle de vie et leur composition chimique, ainsi que leurs effets biologiques sur la santé humaine. Le deuxième chapitre, on présente la chronologie historique des biofilms, les conditions et les étapes de formation et notamment les lieux de leur apparence et le problème de résistance.

Ensuite, dans la deuxième partie se concentre sur les matériels et les méthodes pour l'extraction des extraits bruts des algues rouges et les souches formatrices de biofilm qui ont été testé pour le potentiel de l'activité anti-biofilm.

Enfin, dans la dernière partie, on présente les résultats obtenus et les discussions qui en découlent, et en concluant cette étude par une conclusion.

Partie

bibliographique

CHAPITRE 1.
Les biofilms bactériens

I. LES BIOFILMS

Le biofilm est une population microbienne homo ou hétérogène (**Roux et Ghigo, 2006**) dans laquelle les cellules sont agrégées et entourées d'une matrice exopolysaccharidique (EPS) autoproduite (**Hubas, 2018**) qui permet la fixation irréversible des microorganismes sur des surfaces biotiques ou abiotiques (**Donlan et Costerton, 2002**) Cette matrice représente 85% de volume totale de biofilm mature (**Kokare et al., 2009**).

Dans l'habitat naturel 99% des bactéries (**Donlan et Costerton, 2002**) vivent en biofilm car c'est une forme de survie où les bactéries passent d'un mode de vie planctonique (solitaire) à un mode de vie communautaire (**Bosgraud, 2003**) ; (**Tolker-Nielsen, 2015**).

Ces biofilms sont protégés vis-à-vis le système immunitaire puisque ça représente un frein pour les cellules phagocytaires qui libèrent des enzymes avec un effet très réduit sur les biofilms ce qui peut endommager les tissus (**Roux et Ghigo, 2006**).

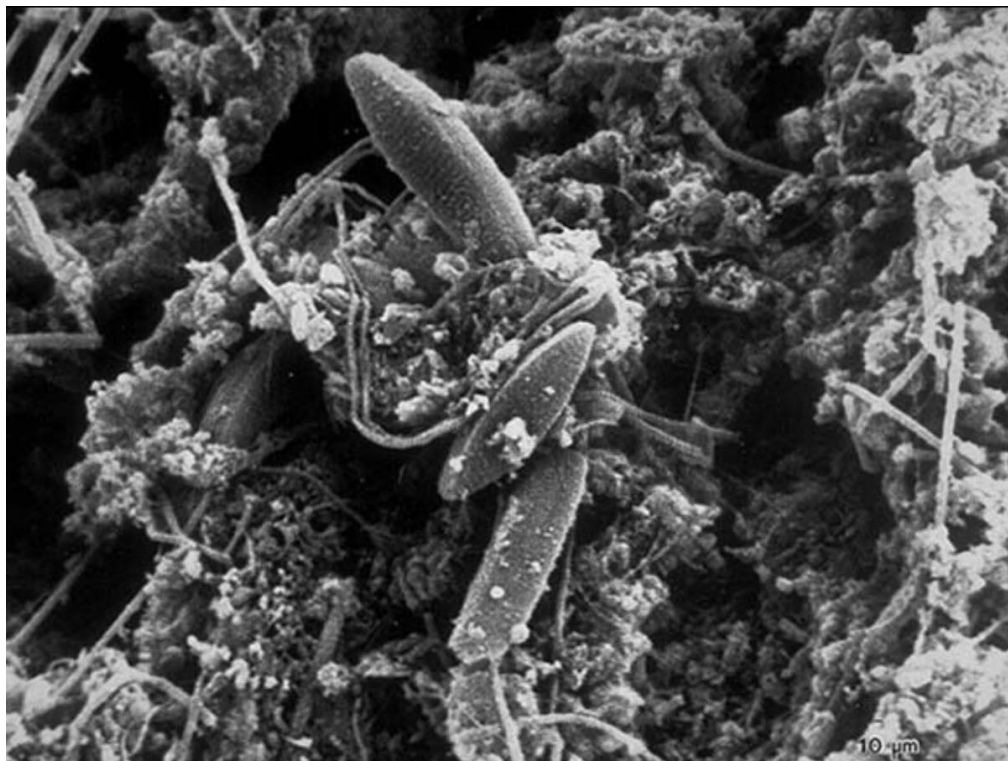


Figure 1. Une micrographie électronique à balayage d'un biofilm développé sur une surface 10 µm (**Donlan, 2002**)

I.1. Historique

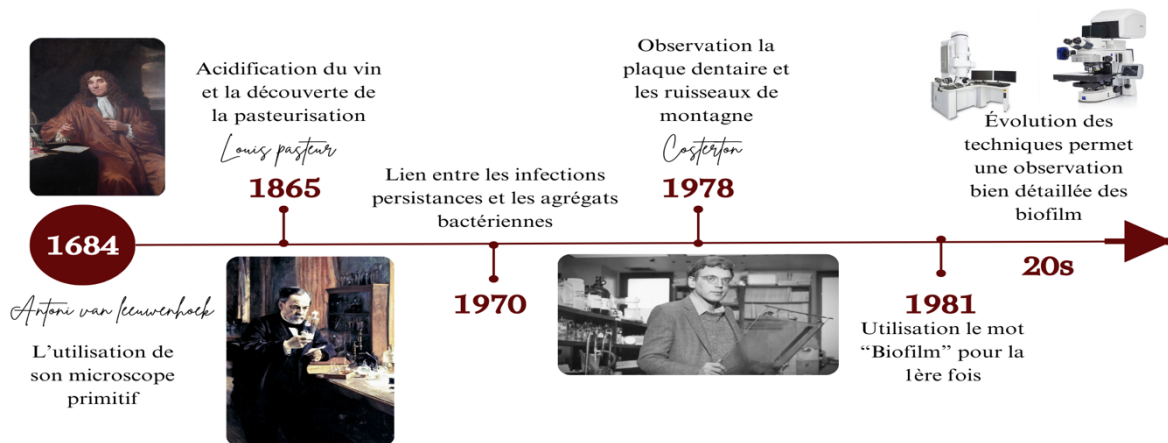


Figure 2. Historique de la découverte des biofilms (Donlan, 2002; Bjarnsholt *et al.*, 2013; Hoiby, 2017)

Les biofilms ont été décrits de façon abondante depuis Van Leewenhoek en 1648 par l'utilisation de son microscope primitif car il a observé des structures vivantes nommées animalcules sur la surface de ses dents (Donlan, 2002; Bjarnsholt *et al.*, 2013).

Ensuite en 1865 le chercheur Louis Pasteur a examiné et esquissé des agrégats bactériens responsables de l'acidification du vin, ce qui a mené sa découverte révolutionnaire de la pasteurisation (Bjarnsholt *et al.*, 2013). Après, Des études médicales ont établi un lien entre les infections persistantes et les agrégats bactériens observés chez les patients atteints de mucoviscidose infecté par *Pseudomonas aeruginosa* dans les années 1970 (Hoiby, 2017).

En 1978, Costerton et ses collègues ont élaboré une théorie des biofilms basée sur une observation des plaques dentaires et les communautés sessiles dans les ruisseaux de montagne. Ils ont expliqué comment les microorganismes adhèrent aux matériaux vivants ou non. Ainsi, les avantages de cette niche écologiques (Donlan, 2002). Jusqu'au 1981, le mot « Biofilm » avait été publié pour la première fois par des dentistes suédois, à la même année Costerton a utilisé le terme « Biofilm » dans un rapport technique microbiologique, il a mis en évidence la résistance accrue des biofilms aux antibiotiques par rapport aux bactéries planctoniques (Hoiby, 2017). Depuis ce moment-là, les études des biofilms ont évolué grâce à l'utilisation des techniques plus développées telles que le microscope électronique qui donne une image de haute résolution à des grossissement plus élevé que le microscope optique (Donlan, 2002).

I.2. Les étapes de formation

Le passage d'un mode de vie planctonique au mode de vie sessile est un mécanisme hautement régulé (Sauer *et al.*, 2022). Cette formation de biofilm peut être très rapide en quelques heures, elle passe par des étapes (Figure 3) telles que l'adhésion initiale réversible, l'adhésion irréversible puis par la maturation et finalement, la dispersion de biofilm (Tremblay *et al.*, 2014).

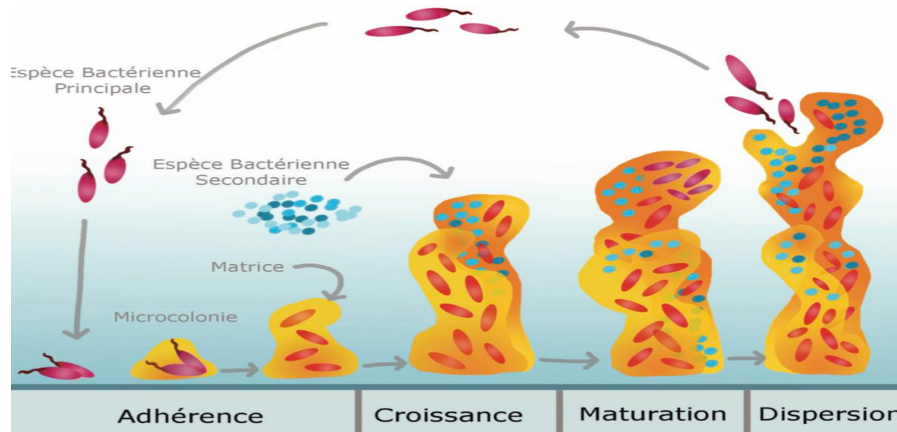


Figure 3. Schéma représente les étapes de formation d'un biofilm (Tremblay *et al.*, 2014)

I.2.1. Adhésion initiale réversible

Les bactéries planctoniques s'approchent à une surface grâce à la force de flux, la gravitation et la mobilité intrinsèque (Garrett, 2008) les bactéries à Gram négatives s'adhèrent par les pili, flagelles (Beloin, 2008), et pour les bactéries à Gram positives par l'acide téichoïque (Otto, 2013). Pour les bactéries non mobiles, elles se fixent par les curli (Beloin, 2008) qui sont des protéines filamenteuses principalement fabriquées par les Enterobacteriaceae. Ils jouent un rôle crucial dans la création du biofilm et dans l'auto-agrégation des bactéries. À l'extérieur de la bactérie, ils se regroupent grâce à la sécrétion de monomères de CsgA, qui requièrent la protéine nucléatrice CsgB. Une fois regroupés, ils participent à la formation tridimensionnelle du biofilm (Prigent-Combaret *et al.*, 2000).

Cette phase est réversible et transitoire à cause de faible cisaillement et la mobilité, elle est influencée par plusieurs conditions environnementaux (pH, température, force ionique de milieu, la nature de la surface..) (Beloin, 2008). Dans cette étapes les cellules

bactériennes sont encore sensibles aux agents antimicrobiens et peut être facilement éliminer par un rinçage (**Hoiby *et al.*, 2011**).

I.2.2. Adhésion irréversible

Les cellules s'attachent à la surface et commencent la division cellulaire formant des micro-colonies produisant la matrice polymérique à base des polysaccharides autour d'elles (**Donlan, 2001**). Cette matrice joue un rôle crucial dans le maintien de la structure spatiale de biofilm et assure la protection dans les environnements difficiles, la matrice est hautement hydratée (97% d'eau) ce qui occupe le volume totale de biofilm (**Beloin, 2008**).

La surface bactérienne et le support établissent des fortes interactions par des liaisons hydrophobes tels que les forces de Van der Waals, les interactions stériques et électrostatiques (**Garrett, 2008**). Cette forte interaction permet aux bactéries de se fixer irréversiblement.

I.2.3. La maturation

Les cellules dans ce stade continuent à synthétisés des exo-polysaccharides et d'autres composants de la matrice polymérique pour renforcer les interactions, la cohésion et la stabilité de biofilm (**Tremblay *et al.*, 2014**). Le biofilm a une croissance souvent exponentielle se traduit par l'augmentation rapide de population (**Garrett, 2008**) qui couvre une partie ou la totalité de la surface, lorsque le biofilm devient épais, il forme une structure tridimensionnelle sous forme de champignon (**Hoiby *et al.*, 2011**) cette dernière avec la présence des canaux entre les cellules permettent le passage des nutriments, oxygène (**Dumas, 2007**) et les métabolites vers les bactéries qui se trouvent dans les profondeurs de biofilm car la concentration en élément nutritif est faible (**Garrett, 2008; Hoiby *et al.*, 2011**).

Au cours de la maturation, le biofilm devient hétérogène ce qui le rend plus épais et plus stable par rapport l'homogène (**Anand *et al.*, 2014**) cette complexité permet aux bactéries d'exprimer des gènes différents et l'acquisition des nouveaux caractères physiologiques distinct (**Beloin, 2008; Tremblay *et al.*, 2014**).

I.2.4. La dispersion de biofilm

Lorsque le biofilm est mature des grandes particules se séparent en raison de plusieurs facteurs qui rendent le milieu défavorable tel que la perturbation mécanique (force de cisaillement) (**Anand *et al.*, 2014**), la production des enzymes par les cellules de biofilm elles-mêmes pour dégrader les polysaccharides de la matrice polymérique, la dégradation substrat sur lequel le biofilm est fixé et même induction de la mortalité (**Garrett, 2008**) ; (**Tremblay *et al.*, 2014**). Selon **Anand *et al.* (2014)**, les cellules de biofilm sont fortement résistantes et elles colonisent d'autres endroits après la dispersion afin de reconstruire des nouveaux biofilms (**Garret, 2008**).

I.3. Les facteurs formatrices des biofilms

I.3.1. Les propriétés de la cellule

L'hydrophobicité de la surface cellulaire est essentielle car elle favorise l'adhésion sur les surfaces non-polaires. Les fimbriae portés par les bactéries sont très riches en acides aminés hydrophobes ce qui augmentent la fixation et dépassent les répulsions électrostatiques quelles se trouvent sur la surface, même pour les flagelles.

D'autre composés spécifiques qui assurent l'attachement tel que l'acide mycolique pour les bactéries à Gram positives et l'antigène O du lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries à Gram négatives (**Donlan, 2002**).

I.3.2. Quorum sensing (QS)

C'est un signal au niveau d'une communication bactérienne notamment dans les biofilms qui permet aux bactéries de synchroniser leurs expressions génétiques en fonction de leurs densités cellulaires via la production, la sécrétion et la détection des petites molécules de signal appelées les auto-inducteurs (AI) (**Roux et Ghigo, 2006**) Chez les bactéries à Gram négatives l'auto-inducteur est une N-acyl homo-serine lactone (AHLs), et pour les bactéries à Gram positives est un oligopeptide nommé le phéromone. Il existe des auto-inducteurs 2 (AI-2) produit par les deux types des bactéries appelées diester AI-2 qui sont important lors de communication des différentes espèces bactériennes. Ces auto-inducteurs se fixent sur un régulateur de transcription, lors de son activation il induit l'expression des gènes de QS qui sont organisées dans l'opéron *lux* (**Mion *et al.*, 2019**).

Chez les bactéries à Gram négatives, les auto-inducteurs AHLs synthétisés par la protéine LuxI seront excrétés dehors la cellule par diffusion s'ils sont une courte chaîne sinon pour les longues chaînes par des transports actifs. Lorsque la concentration de ces auto-inducteurs atteint un certain seuil ils entrent dans la cellule et se fixent sur le récepteur LuxR, le complexe AHLs-LuxR se fixe sur le promoteur afin d'activer la transcription des gènes particuliers du biofilm. Cependant, chez les bactéries à Gram positives produisent les précurseurs peptidiques et libèrent vers le milieu extérieur, les précurseurs s'accumulent progressivement jusqu'à atteindre un niveau de concentration pour former une zone spécifique de la population bactérienne qui commence à s'auto-activer. Les bactéries possèdent des récepteurs membranaires contenant l'histidine kinase responsable de la phosphorylation des peptides se relie avec leurs récepteurs ce qui aboutit à l'activation d'une protéine régulatrice quand elle est activée se lie directement à l'ADN et commence la régulation de l'expression des gènes cibles (Aliane, 2018).

I.3.3. La nature de substrat

Des études mettent en évidence que la rugosité de la surface augmente la formation de biofilm (Van Loosdrecht *et al.*, 1995). En raison de la faible force de cisaillement et la superficie de cette surface est plus élevée. En outre, la plupart des scientifiques ont confirmé que les cellules microbiennes adhèrent rapidement aux surfaces hydrophobes non polaires tel que le téflon, latex, Silicon et d'autres plastiques que les matériaux hydrophiles hautement chargés comme le verre et des divers métaux (Donlan, 2002).

I.3.4. Température

Les changements de température ont un effet marquant sur les biofilms car elle influe sur les caractères métaboliques et enzymatiques des microorganismes et certains paramètres physico-chimiques ce qui altère même les propriétés de la surface. Dans les milieux aquatiques elle augmente la photosynthèse, la respiration et la diversité microbienne (Goudot, 2012).

I.3.5. Hydrodynamique

L'hydrodynamique a une importance dans le développement des biofilms parce que l'augmentation des flux favorise l'adhésion et la croissance des cellules microbiennes, mais

a un certain seuil où les obstacles de cisaillement peuvent inhiber cette adhésion et provoquer une dispersion.

Les biofilms ont été étudiés dans des différents contextes hydrodynamiques, incluant l'écoulement laminaire et turbulent (**Goudot, 2012**). Un environnement turbulent favorise la création d'un biofilm stable et rigide, tandis que laminaire forme un biofilm plus homogène (**Kokare et al., 2009**).

I.4. Lieux d'apparence des biofilms

I.4.1. Les milieux industriels

Environ 60% des épidémies alimentaires mondiales sont à l'origine de l'existence des biofilms (**Liu et al., 2013**), selon l'organisation des Nations Unies pour les aliments et l'agriculture (FOA) des milliards des aliments gaspillés annuellement à cause de développement des biofilms qui entraînent une contamination et détérioration des denrées alimentaires (**Rather et al., 2021**) ce qui provoque un échec économique important (**Liu et al., 2023**).

Chaque secteur dans l'industrie colonisés par des microorganismes spécifiques selon la disponibilité des facteurs favorables pour la croissance, notamment dans les industries de la transformation des produits laitiers qui sont colonisés par *Lactobacillus*, *Listeria*, *Staphylocoques*, *Streptocoques* et *Pseudomonas* (**Liu et al., 2023**) en raison que le lait a un pH neutre et très riche en nutriment ce qui stimule leur croissance (**Benkhaldi, 2017**). Ces biofilms constituent un réservoir microbien défavorable malgré la présence des microorganismes inoffensifs bénéfiques lors de la consommation tel que les probiotiques de yaourt, les ferment et plusieurs d'autre (**Liu et al., 2023**).

D'autre secteurs souffre de cette formation de biofilms tels que les stations d'épuration des eaux, 30% de la population bactériennes présentent dans les réseaux de distribution d'eau. Aussi, dans l'industrie pétrolière, la colonisation des microorganismes dans les systèmes de d'injection d'eau provoque une acidification de pétrole et le rend inutilisable (**Roux et Ghigo, 2006**). Dans la station de distribution de l'eau potable aussi, il existe des traitements qui détruisent efficacement les coliformes fécaux et la majorité des microorganismes transitoires, mais certaines d'autre tel que les bactéries à Gram négatives surtout (*Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila* et les Mycobactéries non tuberculeuse) et certaines amibes peuvent résistés à la chloration dans les eaux traitées et

capable de croître rapidement ce qui cause des maladies humaines même à des faibles doses (**Barbeau *et al.*, 1998**).

Les biofilms peuvent se développer sur les coques de navires « Bio-fouling » ce qui augmente la force de friction et diminue la vitesse des bateaux (**Roux et Ghigo, 2006**).

I.4.2. Les milieux hospitaliers

Les biofilms dans les milieux médicaux se développent sur divers supports tels que les tissus, les dispositifs médicaux (les sondes urinaires, les cathéters veineux, les prothèses...) et sont liés aux infections associées aux soins qui dépasse 25% dans les pays sous développé (**Aumeran *et al.*, 2020 ; NafissaChabni *et al.*, 2019**)

Ces biofilms causent des infections chroniques et des graves problèmes dans les milieux hospitaliers. Ces infections peuvent touchées surtout les immunodéprimés par les bactéries commensales telles que *Staphylococcus epidermidis* (**Roux et Ghigo, 2006**) ainsi que chez les patients atteints de mucoviscidose et des infections alimentaires due à l'ingestion des exotoxines (**Liu *et al.*, 2023**) car cela, permettrait aux bactéries de se propager vers les organes et causer des infections aiguës du sang (**Bjarnsholt *et al.*, 2013**).

Les chercheurs ont observé *in vivo* que la taille des biofilms dans les infections chroniques varie entre 5 à 200 µm de diamètre en raison de la disponibilité des nutriments, la réponse immunitaire de l'hôte et les antibiotiques utilisés conditionnent la croissance des biofilms. Alors que, dans les infections associées aux cathéters ils atteignent jusqu'à 1200 µm de diamètre grâce à la présence d'une grande surface abiotique solide (**Bjarnsholt *et al.*, 2013**).

I.5. La résistance aux agents antimicrobiens

Le développement des biofilms cause des sérieux problèmes surtout dans les secteurs médicaux en raison de leur acquisition a une résistance terrible aux agents antimicrobiens. (**Roux et Ghigo, 2006**). Les chercheurs ont observé que les biofilms sont 10 à 1000 fois plus résistantes que les cellules planctoniques (**Mah *et al.*, 2001**). D'après **Stewart et Costerton (2001)**, il existe trois hypothèses principales sur la résistance des biofilms.

La première, la matrice polymérique de biofilm chargée négativement, lors de la fixation des antibiotiques qui sont chargés positivement entraîne un retard de leur pénétration et même leur désactivation avant qu'ils atteignent les cellules dans les zones profondes (**Stewart et Costerton, 2001**), peut-être même forme une efficace barrière contre le système immunitaire parce qu'elle empêche la reconnaissance antigène-anticorps (**Roux et Ghigo, 2006**).

La deuxième hypothèse, liée à l'environnement spécifique de biofilm vu que le manque des éléments nutritifs, l'oxygène et l'accumulation des déchets peuvent gêner l'action des antibiotiques. Tous ces facteurs peuvent entraîner les cellules bactériennes profondes (**Stewart et Costerton, 2001**) à l'état de dormance ; viable non cultivable (VNC) ce qui rend les cellules moins sensibles aux agents antimicrobiens (**Tremblay et al., 2014**).

La dernière hypothèse de résistance, réside en la présence des sub-populations qu'elles sont capable de résister des concentrations élevées des antibiotiques (**Roux et Ghigo, 2006**). Elles contribuent à modifier des propriétés physiologiques des microorganismes ce qui induisent des mécanismes de résistances plus spécifiques que les mécanismes connus, elles expriment des phénotypes particuliers telles que les pompes d'efflux qui excrètent dehors les cellules toutes substances exogènes comme les antibiotiques, des mutations au niveau des gènes codantes les protéines membranaires « porines » ce qui diminue la perméabilité (**Mah et O'Toole, 2001**).

Tous ces types de résistances rendent les biofilms plus fois puissantes contre les antibiotiques dans ce cas-là les symptômes peuvent réapparaître une fois le traitement est terminé (**Roux et Ghigo, 2006**).

CHAPITRE 2.
Les algues rouges

I. LES ALGUES

Les milieux aquatiques sont très riches en algues qui constituent environ 25000 à 30000 espèces vivants dont 50 espèces sont exploités (**Floc'h, 2010**). Ces algues sont des organismes vivants photosynthétiques, particulièrement autotrophes, Pluri ou unicellulaires (**Zehlila, 2017**). Pour survivre et se développer, les algues ont besoins de la lumière afin de réaliser la photosynthèse pour des besoins nutritifs et leur reproduction (**Ravan, 2007**). Les algues peuvent se développer dans tous les écosystèmes aquatiques tel que les rivières, les mers, les lacs et même dans les milieux terrestres comme sur les rochers, peuvent aussi vivre en symbiose avec la population animale (**Garon-Lardiere, 2004; Floc'h, 2010**). Elles sont constituées d'un appareil végétatif qui s'appelle le Thalle, certaines sont microscopiques (micro-algues) et d'autre sont macroscopiques (macro-algues) dont la taille peut atteindre plusieurs centimètres (**Zehlila, 2017**). Ces dernières possèdent un appareil végétatif observable a l'œil nue, fixée sur des supports abiotiques tel que le sol, les pierres ou les rochers et elles sont regroupées en trois groupes en fonction de leurs pigmentations photosynthétiques :

Les algues vertes nommés « *Chlorophycées* » sont des organismes chlorophylliens qui se développent dans l'eau douce, les milieux marins et terrestres (**figure 4**) caractérisé par la présence des chloroplastes contenant la chlorophylle a, b et d'autre pigment tel que caroténoïde pour permettre réaliser la photosynthèse (énergie lumineuse) et la production de l'amidon (énergie chimique), en plus elles sont très riches en protéines, calcium. Ce type d'algues sont pluri ou unicellulaires (**Garon-Lardiere, 2004; Zehlila, 2017**). Elles ont la capacité de transformer l'énergie lumineuse (longueur d'onde bleue) en énergie chimique (**Garon-Lardiere, 2004**). Les chlorophycées sont les producteurs primaires de la moitié de l'oxygène de la planète. Ainsi qu'elles possèdent des propriétés antioxydantes et gélifiantes (**Garon-Lardiere, 2004**).



Figure 4. Photographie des algues vertes *Ulva pertusa* (**Yong et al., 2018**)

Les **algues brunes**, appeler aussi « *Phaeophycées* » sont des organismes pluricellulaires qui absorbent des longueurs le lumière bleue et rouge. La couleur brune (**Figure 5**) est due à la présence des pigments tels que la flucoxanthine qui appartient de la classe de xanthallophyle et ainsi que la chlorophylle. Ces algues sont marines qui vivent sur les rochers et dans le benthos (**Garon-Lardiere, 2004**).



Figure 5. Photographie des algues marines brunes *Sargassum fusiforme* (**Yong et al., 2018**)

Les **algues rouges** ou « *Rhodophycées* » sont des organismes pluricellulaires dans le milieu marin et unicellulaire dans l'eau douce (**Garon-Lardiere, 2004**). Elles sont fixées dans les profondeurs marines où leurs pigments captent la lumière qui pénètre plus profondément (**Zehlila, 2017**). (**Figure 6**)



Figure 6. Photographie des algues marines rouges *Gloiopeltis furcata* (**Yong et al., 2018**)

Ces organismes vivants ont un rôle important dans le système écologique, elles constituent une source importante de produits utilisés dans plusieurs secteurs médicaux et industriels particuliers, comme les industries agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques ainsi que le domaine pharmacologique (**Bengueddour et al., 2014**).

I.1. Les algues rouges

Les algues rouges sont classées en deux groupes : les Bangiophycées qui se caractérisent par une structure primitive dont une reproduction asexuée, tandis que les Floridéophycées ont une reproduction sexuée d'une structure complexe (**Garon-Lardiere, 2004; Arbab, 2015**).

Les cellules possèdent un noyau délimité par une membrane nucléaire où se situe le matériel génétique. Elles sont caractérisées par une paroi cellulaire riche en polysaccharides et par la chloroplaste nommé rhodoplaste qui assure la photosynthèse (**Garon-Lardiere, 2004**), il est composé d'un seul type de chlorophylle : la chlorophylle a, qui contient le rhodamylon ; un polysaccharide de réserve (**Pérez, 1997**).

Le pigment phycoérythrine colore les cellules en rouge, d'où l'appellation des « Rhodophytes » pour les algues rouges (**Floc'h, 2010**). Ce pigment a la capacité d'absorber la lumière dans les milieux marins profonds.

I.2. Habitat et les conditions de vie

I.2.1. Habitat

Les algues rouges sont abondantes dans les eaux tropicales mais aussi présentes dans les régions plus froides, bien qu'elles soient moins courantes en eau douce (**Raven, 2000; Salhi, 2019**). Selon **Raven, (2000)** les algues rouges sont plus fréquentes en mer, où elles se fixent généralement aux rochers, à d'autres algues, voire même adoptent des formes flottantes.

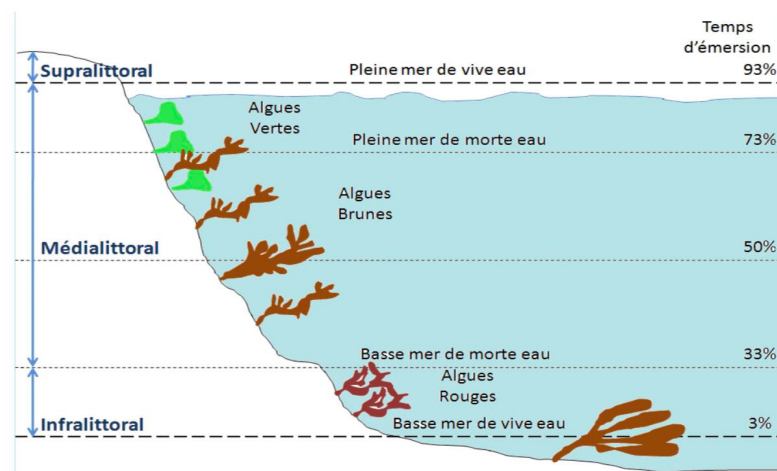


Figure 7. Schémas représentatif la zonation des algues marines (**Faller, 2011**)

I.2.2. Les conditions de vie

Les algues rouges comme toutes les formes de vie marine, évoluent dans un environnement qui leur est propre, caractérisé par un ensemble de conditions particulières :

I.2.2.1. La lumière

La lumière est la clé de la photosynthèse, car les algues ont besoin d'une quantité suffisante de l'intensité lumineuse afin de répondre à leur besoin d'assimilation chlorophyllienne (**Faller, 2011; Akretche, 2020**). Les pigments des algues rouges sont adaptés pour absorber la lumière verte et bleue-verte qui pénètre dans les eaux les plus profondes (**Raven, 2000**).

I.2.2.2. La température

Certains types d'algues rouges préfèrent les eaux chaudes tandis que d'autres préfèrent les eaux froides. Certaines espèces peuvent tolérer des variations importantes de température tout au long de la journée. En revanche, d'autres espèces se développent à l'ombre ou dans des zones aux températures plus constantes et modérées (**Faller, 2011**).

I.2.2.3. La salinité

Sur la plupart des côtes marines, la concentration en sels divers dans l'eau de mer se situe généralement entre 33 et 38 grammes par litre, une concentration qui convient à la plupart des espèces des algues. Bien que certaines espèces peuvent également tolérer des variations de salinité et se retrouver en eau douce (**Faller, 2011**). Pour les algues rouges la salinité de l'eau de mer à une profondeur de 100 mètres peut fluctuer en fonction de divers facteurs tels que la localisation géographique, les conditions météorologiques et les courants océaniques.

I.3. Le cycle de vie des algues rouges

Le cycle de reproduction des algues rouges est compliqué, il comporte trois phases, une phase gamétophytique haploïde et deux phases sporophytiques diploïdes.

I.3.1. Tétrasporyte

C'est une phase qui produit des tétraspores haploïdes par méiose qui vont se germer pour donner des gamétophytes mâles haploïdes « Spermanges » et femelles haploïdes « oosphère » (Murray, 2008). Les gamétophytes mâles donnent des thalles libérant des spermatis (des gamètes non mobiles) dans l'eau, ils sont transportés par le courant vers les gamétophytes femelles dans la région trichogyne qu'est une projection filamenteuse (Raven, 2000; Murray, 2008).

I.3.2. Carposporophyte

Les spermatis fusionnent et arrivant jusqu'au noyau de l'oosphère, après la fécondation donnent naissance d'un zygote diploïde, ce dernier va se développer et libère de nombreux carpospores (n) portées par carposporophytes. Ces carpospores si elles restent vivantes, se fixe sur un support et développent un tétrasporyte (des thalles porteurs des spores diploïdes) dans la partie terminale, soumise à une méiose en donnant des tétraspores haploïdes (Jean, 2020).

Selon Raven (2000), l'alternance des phases génératrices des algues rouges et la capacité de produire des nombreux carposporophytes qui produisent à leur tour plusieurs carpospores émergentes qui ont la capacité de la production immense des tétraspores à partir d'un seul zygote. Tous ces derniers forment un mécanisme permet de remplacer l'absence des flagelles.

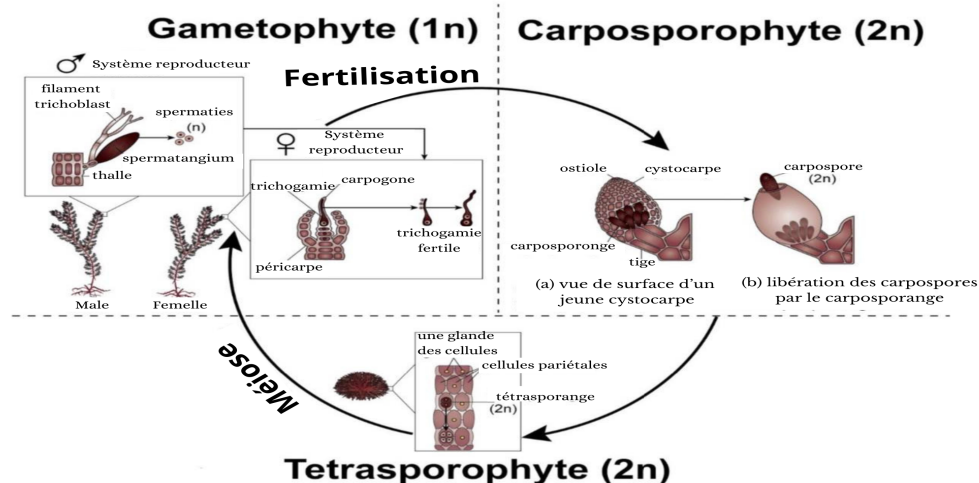


Figure 8. Schéma représente le cycle de reproduction d'une algue rouge *Asparagopsis taxiformis* (Khen, 2020)

I.4. La composition chimique des algues rouges

I.4.1. Les protéines

Chez les algues rouges la teneur en protéines des variétés des algues varie fortement et démontre une dépendance à des facteurs tels que la saison et les conditions de croissance environnementales.

Les algues rouges, par exemple, *Porphyra tenoura* contiennent 21 à 47 g de protéines/100 g de poids sec (**Dawczynski, 2007**) et *Palmaria palmata* (Dulse) teneur en protéines peut varier de 9 à 25% car les contenus protéiques élevés sont observés durant les périodes de fin d'hiver et de printemps et les faibles quantités sont observées durant les mois d'été (**Arhab, 2015**). Chez les macro-algues rouges la fraction protéique (30-40 % de la matière sèche) comparable à celle des légumineuses (**Marfaing, 2007**). Il existe des molécules protéiques particulières chez les algues rouges :

I.4.1.1. Les phycobiliprotéines

Les phycobiliprotéines sont des pigments hydrosolubles (**Bourgougnon, 2019**), dont la biosynthèse s'effectue en deux étapes, la première est la synthèse de la partie protéique dite « apoprotéine », la seconde étape est la synthèse de la phycobiline (les chromophores). Ces derniers, tels que la phycocyanobiline, la phycoérythroline et la phycourobiline sont responsables de la pigmentation particulière de ces algues rouges (**Juin, 2015**). Les phycobiliprotéines remplissent le rôle de collecteurs de photons pour réaliser la photosynthèse ce qui permet aux algues de prospérer dans des conditions de faible luminosité. L'énergie lumineuse capturée par les trois grandes catégories de phycobiliprotéine, la première est la phycoérythrine (PE) est ensuite transférée à la phycocyanine (PC), puis à l'allophycocyanine (APC), et enfin à la chlorophylle (**Bourgougnon, 2019**). Les phycobiliprotéines (phycoérythrine des algues rouges) possèdent des propriétés antioxydantes permettant la prévention contre certaines maladies telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires ou ophtalmiques (**Marfaing, 2007**).

I.4.1.2. Les lectines

Les lectines sont des protéines isolées à partir de nombreuses espèces des algues rouges telles que *Galaxaura marginata* (Liao *et al.*, 2003). Ces protéines vont se lier avec des glucides pour avoir une activité antibactérienne contre les pathogènes permettant l'agrégation et l'immobilisation des cellules de *Vibrio vulnificus* (Holdt, 2011).

I.4.2. Les polysaccharides

Les macromolécules biologiques les plus importantes dans les milieux aquatiques et terrestres sont les polysaccharides. Ces macromolécules sont constituées de successions de monosaccharides, dont la variété stéréochimique et les possibilités d'enchaînement entre résidus sont considérables, car le nombre potentiel de structures chimiques de polysaccharides est immense (Lemoine, 2007). Les algues marines possèdent des polysaccharides solides qui se trouvent sous la forme de fibre, de granules dont les propriétés physicochimiques et structurales sont liées à leur structure chimique et selon leurs applications biotechnologiques, notamment en thérapie, en cosmétique principalement en agriculture et horticulture en tant que des biostimulants (Tandina, 2017). Les algues rouges d'intérêt ont une concentration totale des polysaccharides de 4 à 76% du poids sec (Mzibra *et al.*, 2022). Les polysaccharides des algues se composent d'une vaste famille au sein de laquelle on distingue:

I.4.2.1. Les polysaccharides de structure (pariétaux)

Les parois cellulaires des algues rouges sont caractérisées par une rigidité formée par des microfibrilles de cellulose ou d'autres polysaccharides, ainsi qu'une couche externe mucilagineuse composée d'un polymère sulfaté de galactose tel que l'agar ou le carraghénane. Cette dernière est responsable de la texture souple et glissante de ces algues (Raven, 2000). Les polysaccharides pariétaux comprennent deux phases :

- **Une phase squelettique ou dite fibrillaire** dans laquelle des polysaccharides insolubles enveloppés d'une matrice amorphe mucilagineuse. Les algues rouges renferment divers composés tels que des carraghénanes, des agars, des xylanes, du galactane sulfaté soluble dans l'eau, de l'amidon de floride, ainsi que de la porphyrine, qui est un mucopolysaccharide présent dans les espaces intercellulaires (Mzibra *et al.*, 2022).

La cellulose est un polymère composé d'unité β -(1-4)-D-glucose, constitué globalement d'une succession linéaire de 8 000 à 12 000 unités de D-glucose. Ces derniers sont liés aux microfibrilles par des liaisons hydrogènes (Richard, 2016). La paroi cellulaire des algues rouges ne contient que 1 à 9% de cellulose (Garon-Lardière, 2004).

L'agar est le polysaccharide présent dans le thalle formé de 70% d'agarose et 30% d'agaropectine qui se trouve principalement chez les algues rouges (Akretche et Mokrani, 2020) tel que le genre *Gelidium* possédant des propriétés gélifiantes élevées (Bououedine *et al.*, 2007). L'agar est un polymère sulfaté de D- et L-galactose et / ou 3,6- α -anhydrogalactose, sa structure comprend des répétitions régulières d'unités di-osidiques (Akretche et Mokrani, 2020).

Les carraghénanes appelés aussi les carraghénates sont des galactanes composés de D-galactose sulfaté formant des unités, appelées carrabiose (Richard, 2020). Ils sont isolés à partir des algues rouges tel que *Chondrus crispus* (Bououedine *et al.*, 2007). Les carraghénanes sont solubles dans l'eau formant des solutions de forte viscosité, il existe trois types (kappa, iota, lambda). Ils possèdent des propriétés qui peuvent être utilisés dans les industries alimentaires en tant que des gélifiants et clarifiants et même dans des applications médicales comme des antitumorales, antivirales, anticoagulants du sang et des traitements pour des troubles intestinaux (Holdt et Kraan, 2011). Carraguard® est un gel microbicide à base de carraghénanes permettant la prévention contre le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et les infections sexuellement transmissibles (Holdt et Kraan, 2011).

- **Une phase matricielle** contenant des polysaccharides de structures plus hydrosolubles dans la matrice (ou zone amorphe), dont laquelle a lieu les échanges cationiques, la nature des polysaccharides matriciels est spécifique à chaque type d'algues.

I.4.2.2. Les polysaccharides de réserve

Chez les algues rouges, l'amidon florideén (polymère α 1,4 a glucose) est stocké dans le cytoplasme (Tandina, 2017). Cette molécule présente une similitude avec l'amylopectine de l'amidon, est en fait plus étroitement liée au glycogène qu'à l'amidon (Raven, 2000).

I.4.2.3. Les polysaccharides de faibles poids moléculaires

Les glucides de faibles poids moléculaires sont soluble dans le milieu, ils sont les premiers composés produits par la photosynthèse. Ils forment également une réserve d'énergie qui traversent la membrane pour réguler la pression osmotique (**Lemoine et Helbert, 2007; Tandina, 2017**). Chez les algues rouges, on trouve deux isomères : le floridoside (α -D-galactopyranosyl- (1-2)-glycérol) et l'isofloridoside (α -D-galactopyranosyl-(1-1)-glycérol). l'isofloridoside est un mélange isomorphe de formes D et L (**Lemoine et Helbert, 2007**)

I.4.3. Les lipides

Les lipides sont des molécules organiques insolubles constituée d'un enchaînement des acides gras présentent sous forme des graisses, les huiles et les phospholipides. Les lipides jouent un rôle biologiques important, notamment dans le stockage d'énergie, la structure cellulaire et agissent comme des précurseurs pour la synthèse de certaines vitamines (**Raven, 2000**). Selon **Mishra et al., (1993)**, les *Rhodophycées* ont une teneur d'acides gras qui varie entre 45 à 71 %. Les genres *Gracilaria* et *Laurencia* ainsi que les espèces *Porphyra sp.* et *Palmaria palmata* sont une source importante (environ 50%) des acides gras polyinsaturés comme l'omega-3 EPA (C20: 5) (**Mishra et al., 1993; Marfaing et Lerat, 2004; Gressler et al., 2010**).

I.4.4. Les métabolites secondaires

Les végétaux autotrophes synthétisent et accumulent en faibles quantités des molécules organiques complexes appelées métabolites secondaires (**Akretche et Mokrani, 2020**) produite en large gamme distinguer par des activités biologiques divers (**Marfaing, 2017**).

I.4.4.1. Les polyphénols

Les algues marines contiennent des polyphénols, appelés aussi « phloro-tannins » formé par un groupe des molécules de différentes formes structurelles. Des études *in vitro* ont mis en évidence l'activité antioxydante des extraits polyphénoliques issus des algues rouges et brunes (**Marfaing, 2017**).

I.4.4.2. Les terpénoïdes

Les algues rouges synthétisent des terpénoïdes comme des métabolites secondaires capable de éliminent les herbivores, ces molécules possèdent une activité antitumorale (**Raven, 2000**). Les terpénoïdes sont constitués d'unités isoprènes (C5). Ils sont divisés en nombreux classes : les monoterpènes (C 10), les diterpènes (C20), les triterpènes (C30), les sesquiterpènes (C 15) et les tétraterpènes (C40) .

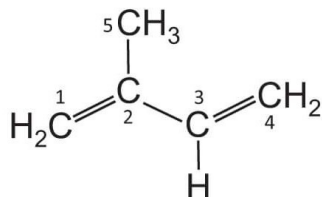


Figure 9. Une structure de la molécule isoprène (**Hillier et Lathe, 2019**)

I.5. L'activité biologique

Les algues marines occupent une place importante dans la découverte de nouveaux traitements d'origine naturels en raison de leur grand potentiel en composés bioactifs.

I.5.1. Antivirales

Les algues marines constituent une source importante des molécules antivirales probables (**Carlucci et al., 1997**). Ainsi, une nouvelle étude montre que les polysaccharides sulfatés sont des inhibiteurs compétents des virus enveloppés tels que les virus de l'Herpès simplex (HSV-1) et (HSV-2), VIH..., en effet, ils bloquent leurs réplifications (**Carlucci et al., 1997; Jiao et al., 2011**). Une étude réalisée *in vitro* par **Carlucci et al.** en 1997, montre que les galactanes sulfatés issus d'algue rouge *Cryptopleura ramosa* inhibent le HSV-1.

D'autres molécules, les carraghénanes sont les constituants majeurs de la paroi cellulaires des *Rhodophytes* qui possèdent des propriétés antivirales intéressantes (**Wang et al., 2012**). Les carraghénanes extraits à partir de *Gymnogongrus griffithsiae* et les galactanes issus de *Cryptonemia crenulata* inhibent la croissance du virus de la dengue (DENV-2) (les cellules Vero), mais ils étaient inefficaces si l'entrée virale normale était contournée par la transfection de l'ARN du DENV-2 (**Jiao et al., 2011**).

D'après l'étude de **Shi et al.** en 2017 montrent que les carraghénanes (lambda, iota et kappa) capable de bloquer l'adhésion de virus à la cellule hôte. Les lambda-carraghénanes ont une activité antivirale sur le virus de l'herpe simplex (HSV), par l'interaction avec les glycoprotéines de l'enveloppe virale ce qui empêche cette dernière de se fixer sur la surface cellulaire. Ils sont des inhibiteurs aussi de papillomavirus (VPH), cette activité antivirale dépend fortement du poids moléculaire et la teneur en sulfates, celle qu'ils ont un faible poids moléculaire possèdent une activité peut être importante contre les virus (**Wang, 2012**).

I.5.2. Antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des algues rouges augmente considérablement par l'utilisation des solvants lors de l'extraction comme l'éthanol et l'acétone par rapport à d'autres solvants (**Cox et al., 2010**). Les extraits obtenus à partir de l'algue rouge *Gracilaria corticata* possèdent une activité antibactérienne sur la plupart des bactéries à Gram négatives incluant *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* et également sur les bactéries à Gram positif tels que *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* (**Shanmughapriya, 2008**). L'extrait obtenu par le méthanol de cette algue rouge a un large spectre antimicrobien (**Shanmughapriya, 2008; Abirami, 2012**).

Une observation microscopique montre une destruction de la paroi cellulaire microbienne par les extraits des algues. Selon **El Shafay et al. (2016)** l'extrait obtenu par l'éther diéthylique de *Corallium rubrum* montre une activité antibactérienne sur la plupart des espèces, les deux bactéries à Gram positives et négatives étaient affectées par les extraits algales et les concentrations minimales inhibitrices (CMI) varient entre 50 à 100 mg/ml. Ces extraits possèdent plusieurs molécules ; des indoles, des terpènes, des acétogénines, des phénols, des acides gras et des hydrocarbures volatils halogénés.

I.5.3. Anticancéreuse

La nécessité des thérapies efficaces contre les cancers est urgente, mais de nombreux médicaments de chimiothérapie actuels entraînent des effets secondaires graves sur les cellules et tissus normaux ce qui rend le cancer est à l'origine de la mortalité la plus élevée

au monde, en particulier dans les pays sous développés, d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estiment en 2022 qu'il y environ 9,7 millions décès qui ont été enregistrés. Des études montrent que les polysaccharides des algues diminuent la croissance tumorale en limitant l'expansion des cellules cancéreuses par apoptose ou améliorent l'efficacité des médicaments existants (**Gheda et al., 2018; Nikolova et al., 2019**).

Les études par **Gheda et al. (2018)** expliquent que les polysaccharides extraits des algues rouges, ont également montré des propriétés anticancéreuses. Les mécanismes sont impliqués dans l'induction de l'apoptose comprennent l'activation des protéines apoptotiques telles que Bax, la régulation des protéines anti-apoptotiques comme Bcl2, et l'implication des caspases dans les voies de signalisation de l'apoptose mais leur mode d'action reste à clarifier. Plusieurs recherches ont rapporté que les polysaccharides sulfatés ont des propriétés antiprolifératives activité dans les lignées de cellules cancéreuses *in vitro*, ainsi qu'une activité inhibitrice dans les tumeurs se développant chez la souris. De plus, ces polymères ont été rapporté que cela induisait l'apoptose dans plusieurs lignées de cancer et stimuler les cellules du système immunitaire pour induire la mort des cellules tumorales (**Costa et al., 2010**).

Les carraghénanes sont connus pour leurs effets antiviraux. Et plus récemment, des recherches ont mis en évidence leur potentiel antitumoral, montrant leur capacité à inhiber la prolifération des cellules cancéreuses *in vitro* et à supprimer la croissance tumorale et les métastases chez les animaux de laboratoire *in vivo*. Des études ont révélé que les carraghénanes dégradés induisent l'apoptose dans diverses lignées cellulaires cancéreuses, notamment les cellules Caco-2, HepG2, MCF7 et HT-29 par l'activation de voies apoptotiques telles que la voie mitochondriale. Les carraghénanes de poids moléculaire plus bas ont généralement un effet plus prononcé sur la mort cellulaire apoptotique que ceux de poids moléculaire plus élevés (**Khotimchenko et al., 2020**).

Les polyphénols des algues pourraient être considérés comme des agents potentiels dans la lutte contre le cancer. Des extraits d'algues rouges ont montré une inhibition de la croissance des cellules cancéreuses *in vitro* et ont réduit l'incidence des tumeurs mammaires chez les rats, cancer du sein et du colon dans des études *in vivo* (**Yuan et Walsh, 2006**).

Une nouvelle protéine lectine (KSL) dérivée de l'algue rouge *Kappaphycus striatus*, cette protéine se compose de 267 acides aminés répartis en quatre domaines a été appliquée en tant qu'agents anticancéreux (**Hung et Trinh, 2021**).

D'après **Smit (2004)**, les terpènes sont exceptionnellement nombreux dans leur gamme d'activités cytotoxiques et antitumorales notamment le chondriamide A isolé de *Chondria atropurpurea*, cette molécule présente une cytotoxicité contre cellules cancéreuses humaines nasopharyngées et colorectales.

Aslam et al. (2009) ont montré qu'il y a un extrait riche en minéraux d'algue marine rouge *Lithothamnion calcareum*, efficace pour éliminer la prolifération des cellules cancéreuses du côlon *in vitro*, agissant soit en stimulant la production et l'expression du récepteur sensible au calcium (CaSR), soit en contournant son exigence. Cet extrait est efficace pour ralentir la prolifération et induire la différenciation des cellules cancéreuses du côlon, même dans des conditions où aucune cytotoxicité n'est observée. Plusieurs études épidémiologiques par **Aslam et al. (2009)** ont mis en évidence le rôle du calcium (Ca^{2+}) dans la chimio-prévention du cancer du côlon. Des études alimentaires chez les animaux ont montré que la supplémentation en « Ca^{2+} » seul ou en combinaison avec de la vitamine D, réduit les anomalies des cellules épithéliales du côlon, y compris les zones d'hyperplasie et la formation de polypes tubulaires surélevés chez des animaux exposés à des régimes riches en graisses ou à des agents cancérigènes.

Partie pratique

I. La récolte

Les algues rouges ont été récoltées pendant le mois d'avril 2024 dans la région de Beni Saf de la Wilaya de Ain Témouchent qui se situe au Nord-Ouest de l'Algérie. (**Figure 10**)



Figure 10. Carte géographique de la région de Beni Saf – Ain Témouchent

II. L'identification

Les algues récoltées ont été identifiées par Dr. Bengueda. W, spécialiste en écotoxicologie à l'université de Tlemcen (Algérie).



Figure 11. Des échantillons des algues rouges

III. Conservation des échantillons

Les algues récoltées sont nettoyées avec l'eau de robinet pour éliminer le sable, le sel et les débris de roches puis un rinçage rapide est réalisé avec de l'eau distillée pour assurer un bon nettoyage. Après le rinçage, les algues sont ensuite séchées par du papier absorbant (**Figure 12, A**). Par la suite, les algues sèches sont moulues et tamisées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. (**Figure 12, B**). Les échantillons sont conservés dans un flacon en verre sombre pour éviter le contact avec la lumière et on les conserve dans le réfrigérateur jusqu'à utilisation. (**Figure 12, C**).



Figure 12. Les étapes de conservation des algues rouges

IV. Extraction par macération

L'extraction par macération consiste à laisser séjourner une substance solide dans un solvant aqueux alcoolique dans le but d'extraire les éléments bioactifs. Dans ce cas-là, le solvant ajouté doit traverser l'interface solide/liquide et dissoudre les éléments actifs présents à l'intérieur et les transporter vers l'extérieur. Le transport du solvant se fait par un processus osmotique alors que la sortie de soluté se réalise par dialyse ou diffusion (**Bouchena et Ouaffai, 2022**).

IV.1. Matériels et produits utilisés

- Les algues rouges (poudre)
- L'éthanol 96%
- Méthanol 96%
- L'eau distillée

IV.2. Le mode opératoire

IV.2.1. Préparation de l'extrait par les différents solvant

- ✓ Une masse de 4,57g de poudre d'algue rouge est dissoute dans 91ml des différents solvants (l'éthanol 96%, le méthanol 96%, et l'eau distillée) séparément.
- ✓ Agiter jusqu'à l'obtention d'une solution homogène et couvrir.
- ✓ Enfin, placer la solution sous agitation à une température ambiante (25°C) pendant 7 jours selon le protocole de **Moubayed *et al.* (2017)** avec une modification.

IV.2.2. La filtration

- ✓ C'est une technique de séparation couramment employé pour extraire un solide d'une solution ou pour éliminer les impuretés solides de celle-ci.
- ✓ Après la précipitation des extraits dans les différents solvants, une filtration est réalisée à l'aide d'un papier filtre. (**Figure 13**)



Figure 13. Filtration des extraits des algues rouges

IV.2.3. L'évaporation par évaporateur rotatif

C'est une méthode qui facilite la séparation de mélanges de substances liquides ayant des températures d'ébullition variées, ainsi que la dissociation des composants d'un mélange homogène. Les extraits ainsi obtenus seront employés pour des analyses biologiques.

En effet, l'évaporateur rotatif (**figure 14**) repose sur le principe de la distillation sous vide partielle. La solution est agitée en rotation afin d'accroître la surface d'évaporation, puis la pression est réduite, souvent à l'aide d'une pompe à eau. La combinaison de la rotation et du vide ainsi créé permet une évaporation à des températures plus basses que celles requises pour les solutions à évaporer (**Offoumou *et al.*, 2019**).

Selon le protocole d'**Alshalmani et Bozakouk (2017)**, la première étape est de nettoyer l'évaporateur rotatif et vérifier s'il est en bon état de fonctionnement et notamment pour le flacon récepteur qui doit être correctement fixé et positionné sous le collecteur pour recueillir le solvant. Remplir le réfrigérant avec l'eau glacée pour éviter le chauffage élevé de l'appareil. Installez le ballon de flacon contenant la solution sur le rotateur et le mettre au niveau du bain marie. En suite, régler les paramètres de l'évaporateur rotatif à 40°C sous agitation modérée d'après le protocole du (**Li *et al.*, 2018**). Après le lancement de l'appareil une surveillance attentive est nécessaire pour éviter tout problème tel que le débordement du ballon ou le sur-chauffage. Une fois l'évaporation terminée, l'extrait souhaité est récupérer ainsi que le solvant à partir du flacon récepteur. Une fois l'opération est terminée, nettoyez soigneusement l'évaporateur rotatif pour éliminer tout résidu de solution et assurez-vous qu'il est prêt pour une utilisation ultérieure. Verser les extraits obtenus dans des petits lacons en verre et les mettre dans l'étuve à 60°C jusqu'àux leur séchage.

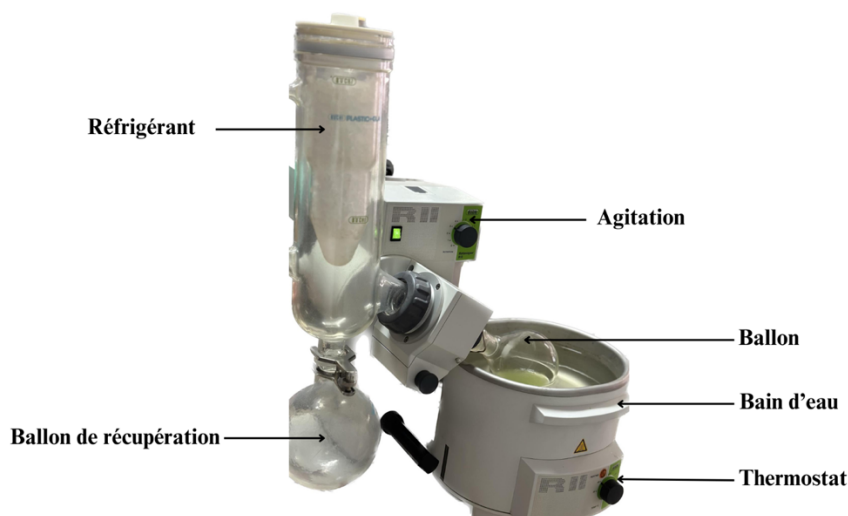


Figure 14. L'évaporateur rotatif

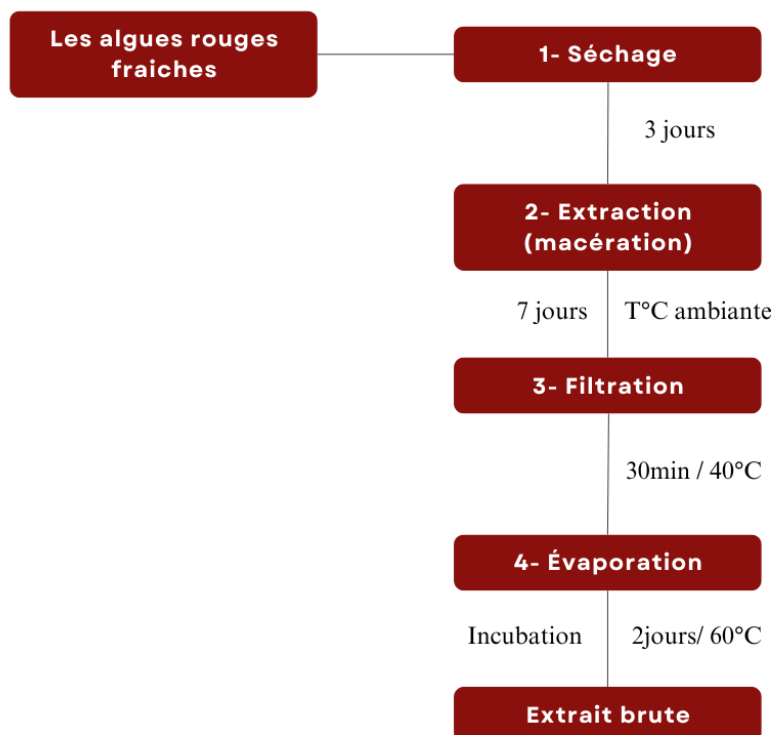


Figure 15. Schéma qui résume les étapes de l'extraction de l'extraits brut des algues rouges

V. Test anti-biofilm des extraits des algues rouges

La complexité de l'élimination des biofilms et l'augmentation de la résistance aux antibiotiques nécessitent une exploration de nouvelles approches pour lutter contre les micro-organismes indésirables. Une stratégie prometteuse implique le ciblage du système de Quorum Sensing (QS). En effet, les applications biotechnologiques des inhibiteurs de Quorum Sensing, également appelés quorum quenchers, ont été largement documentées dans des publications récentes, et plusieurs types d'extincteurs de Quorum Sensing ont été décrits jusqu'à présent. Ces agents peuvent être issus de bactéries tel que la norspermidine, les métabolites secondaires des plantes et d'animaux notamment les enzymes telles que les acylases, les lactonases et les oxydoréductases (**Paluch et al., 2020**).

Des études par **Muthukrishnan et al. (2023)** montrent que les algues marines renferment une diversité des composés bioactifs qui ont été trouvé pour empêcher l'attachement et entraver la formation de biofilms par les bactéries pathogènes. Cette étude a examiné les activités antibiofilms et anti-Quorum Sensing (AQS) des algues rouges.

V.1. Définition de Quorum Quenching

Le Quorum Sensing (QS) régule divers phénotypes bactériens qui prouvent être problématiques pour l'homme. Afin de centrer ces comportements régulés par le QS, différentes stratégies ont été élaborées pour bloquer la communication inter-bactérienne, connue sous le nom d'extinction du quorum (Quorum Quenching). Cette méthode d'inhibition du QS agit en interférant avec la production et la détection des molécules signal, soit au niveau intracellulaire, soit au niveau extracellulaire (Mion *et al.*, 2019).

V.2. Le mécanisme d'action

Il existe plusieurs mécanismes pour inhiber le Quorum Sensing (QS) tels que le blocage des gènes de l'opéron *Lux* ce qui conduit à l'inhibition la synthèse des molécules signal, la dégradation ou l'inactivation enzymatique des molécules signal par (des lactonases, des réductases, des oxydases et des acylases) ; il s'agit du mécanisme le plus connu, en effet, une compétition avec les molécules signal via des analogues des récepteurs bloque les cascades de transduction du signal, par exemple en entravant la formation du complexe entre la molécule de signal (IA) et son récepteur. D'autre mécanisme qui implique l'utilisation d'antagonistes des inducteurs qui se fixent au récepteur et bloquent ainsi la transmission du signal. Une autre approche consiste à inhiber la synthèse des molécules de signal, telles que l'AHL, en utilisant des composés comme le N-octanoyl-L-homosérine lactone (C8-HSL). De plus, les inhibiteurs de kinases peuvent induire une inhibition des molécules de signal chez les bactéries à Gram positives (Paluch *et al.*, 2020).

V.3. Mode opératoire de l'anti-biofilm

V.3.1. Les souches bactériennes utilisées

L'activité anti-biofilm des extraits des algues rouges a été évaluée sur deux souches bactériennes provenant du laboratoire LAMAABE, université de Tlemcen. Une bactérie à Gram positive *Staphylococcus aureus* qui a été isolée à partir d'un dispositif médical (sonde urinaire) et une bactérie à Gram négative *Pseudomonas aeruginosa* qui a été isolée à partir d'un pied diabétique.

V.3.2. La revivification des souches bactériennes

- ✓ À partir d'une culture gélosé inclinée, prendre quelques colonies de la souche *Staphylococcus aureus* et inoculé à l'aide d'une pipette pasteur dans un tube stérile contenant 5ml de bouillon BHIB (Cœur Cervele), agiter et incubé à 37°C pendant 24h.
- ✓ Refaire la même opération pour la 2^{ème} souche de *Pseudomonas aeruginosa*.

V.3.3. Calibrage des souches

- ✓ Après incubation 24h, récupérer les souches qui sont jeunes et bien cultivées. Ensuite, régler le colorimètre à une longueur d'onde de 490nm pour mesurer la densité optique (DO).
- ✓ Dans la 1^{ère} étape, il faut remplir la cuvette par le bouillon BHIB stérile qui servira comme un témoin pour mesurer la DO et la 2^{ème} étape consiste à remplir une nouvelle cuvette par l'une des souches et calibrer dans un intervalle de (0,08-0,1nm) = 10^8 UFC/ml .
- ✓ Refaire la même étape pour l'autre souche.

V.3.4. Préparation des extraits des algues rouges

- ✓ Prendre 2ml de l'éthanol par une seringue et le versé dans l'extrait méthanolique des algues rouges et le même volume pour l'extrait éthanolique.
- ✓ Solubiliser l'extrait obtenu par l'eau distillée dans 2ml du même solvant.

V.3.5. La méthode des plaques de TCP (Plaque de culture de tissus)

- ✓ Dans la plaque de témoin, laisser les deux premières lignes vides. Ensuite, remplir la 3^{ème} ligne par 150µL de la suspension bactérienne de *S. aureus* et la 5^{ème} ligne par 150µL de l'autre suspension de *P. aeruginosa*.
- ✓ Remplir les premières colonnes de la 1^{ère} ligne, 7^{ème} et la 9^{ème} ligne par 200µL de la solution (l'extrait de l'algue avec l'éthanol) et le reste des lignes par 150µL de l'éthanol seul et faire des dilutions par 50µL. Enfin, dans la 11^{ème} ligne remplir avec 200µL de l'eau distillée.

- ✓ Remplir deux nouvelles plaques par 100µL de la suspension bactérienne de *S. aureus* et par la 2^{ème} souche de *P.aeruginosa* (plaques des suspensions) de même volume et incubé à 37°C pendant 24h.
- ✓ Après incubation, pour la plaque de témoin utiliser une micropipette pour verser la 3^{ème} et la 5^{ème} ligne, rincer avec de l'eau distillée ensuite mettre le colorant CV (Crystal Violet) d'un volume de 150µL et laisser agir pendant 15min, rincer encore une fois par l'eau distillée et ajouter 150µL d'éthanol laisser pendant 15min. Remplir la 1^{ème} ligne par 150µL de bouillon BHIB seul. La dernière étape, c'est la lecture sur ÉliSa.
- ✓ Verser et rincer les plaques des suspensions de *S. aureus* par l'eau distillée et sécher par un papier absorbant. Ensuite, dans les trois premières colonnes remplir avec 200µL de l'extrait méthanolique des algues et le reste des lignes par 150µL de solvant (l'éthanol) seul et faire des dilutions. Les mêmes volumes pour les trois colonnes et lignes suivantes remplir par les mêmes volumes pour les extraits éthanoliques et pour les dernière trois colonnes par 200µL de l'extrait d'eau distillée des algues et compléter le rester des lignes par 150µL de l'eau distillée stériles, faire des dilutions et changer les embouts entre chaque puits. Refaire la même opération pour la souche de *P.aeruginosa* et incubé les plaques à 37°C pendant 24h.
- ✓ Après la dernière incubation, rincer les deux plaques des suspensions bactériennes par l'eau distillée, colorer par 150µL de CV pendant 15min, après rincer encore une fois par l'eau distillée, ajouter 150µL d'éthanol et laisser pendant 15min. Enfin, faire la lecture sur ÉliSa.

Résultats et

Discussion

I. Les extraits bruts des algues rouges

Les extraits des algues rouges sont obtenus par macération dans différents solvants (le méthanol, l'éthanol et l'eau distillée) tableau 1. Le rendement le plus élevé est celui obtenu avec l'eau distillée, atteignant 13,4%, suivi par l'extrait de méthanol avec un rendement inférieur à 5% par rapport à celui de l'eau distillée. En dernière position, c'est l'extraction par l'éthanol qui a le rendement le plus faible de 1,6%. Ces rendements ont été calculés en utilisant une formule spécifique.

$$R = \frac{\text{le rendement réel}}{\text{le rendement théorique}} \times 100\%$$

Tableau 1. Rendement et caractéristiques des extraits bruts des algues rouges

Solvants	La masse de l'extrait fini (g)	Le rendement	La couleur	L'aspect
Méthanol	0,2201	4,9%	Verte	Solide
Éthanol	0,0723	1,6%	Verte	Solide
Eau distillée	0,6121	13,4%	Blanche	Solide

Selon **Bhuyar et al. (2020)**, la valeur la plus élevée obtenue par extraction à l'eau indique que les composés de l'algue rouge sont principalement de haute polarité et solubles dans l'eau. En effet, la solubilité des composés est influencée par la polarité des solvants et la structure des composés phénoliques. L'eau, avec un indice de polarité plus élevé et une chaîne plus courte que l'éthanol, est plus efficace pour extraire les solutés. Outre la polarité, d'autres facteurs tels que la température d'extraction, le temps d'extraction et le ratio solvant/solide influencent sur le rendement d'extraction.

Hwang et Thi (2014) ont montré que ces conditions affectent le potentiel des algues rouges. Dans cette étude, la température et le temps d'extraction variaient : l'extraction éthanolique et méthanolique ont été faites à une température de 60°C pendant 2 jours, tandis que l'extraction à l'eau distillée a été faite à la même température mais pendant une semaine. Ces différences

expliquent pourquoi le rendement d'extraction à l'eau distillée est plus élevé que celui de l'extraction par le méthanol et l'éthanol.

Les algues rouges ont été séchées et broyées après 3 jours, la poudre des algues a été solubilisée dans les solvants suivant : le méthanol 96%, l'éthanol 96% et l'eau distillée selon un volume approprié. Après incubation dans l'étuve à 60°C pendant une durée de 3 jours pour l'éthanol et le méthanol et une semaine pour les extraits de l'eau distillée, les résultats sont présentés dans le tableau 2 et la figure 16.

Tableau 2. La densité optique à 490nm des extraits des algues rouges obtenus par les différents solvants.

	Méthanol	L'éthanol	L'eau
A	2,68	1,049	0,067
B	0,563	0,394	0,065
C	0,114	0,18	0,085
D	0,095	0,109	0,069
E	0,05	0,078	0,061
F	0,051	0,054	0,067
G	0,082	0,042	0,071
H	0,074	0,035	0,057
La moyenne	0,463625	0,242625	0,06775

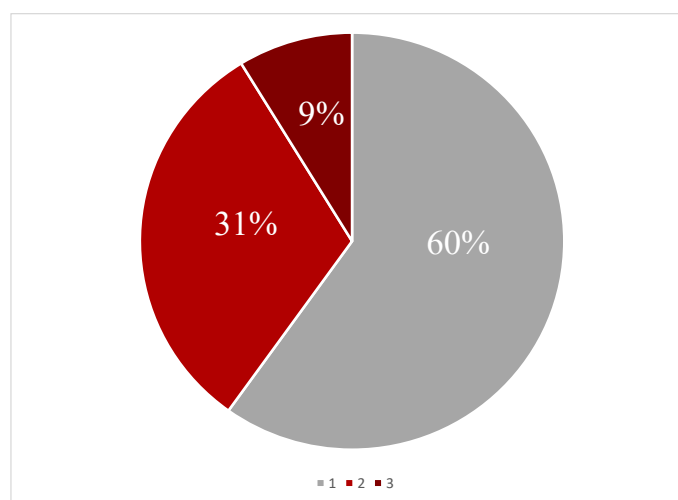


Figure 16. Diagramme circulaire montrant les pourcentages des solvants utilisés pour les extraits des algues rouges. 1 : méthanol, 2 : l'éthanol et 3 : l'eau

D'après les résultats obtenus et la mesure de la DO, on peut dire que les extraits des algues rouges obtenus par le méthanol représentent le pourcentage le plus élevé de 60% ce qui explique que le méthanol est un solvant polaire efficace pour extraire une large gamme de composés polaires et semi-polaires, notamment les phénols, les flavonoïdes, les phycobiliprotéines, les chlorophylles et d'autres composés bioactifs présents dans les algues rouges capable d'absorber plus la lumière à certaines longueurs d'onde appropriée. Ces composés ont souvent des activités antibactériennes et d'autres activités biologiques. Par contre, l'eau distillée malgré sa capacité d'extraire une grande quantité des composés mais qui présentent une faibles absorbance de la lumière. Cela peut être du au changement de la couleur des extraits de méthanol et l'éthanol en verts cependant l'extrait obtenu par l'eau distillée a une couleur blanche. (**Tableau 1**)

En note que, même si la concentration en poids des extraits bruts des algues rouges est plus élevée dans l'eau, les composés extraits par le méthanol peuvent avoir des propriétés optiques plus fortes. Aussi, de nombreux métabolites secondaires présents dans les algues rouges sont plus solubles dans les solvants polaires tels que le méthanol. Cela permet une extraction plus complète et plus efficace des composés bioactifs. Une étude de **Cox *et al.* (2010)** montre que l'efficacité d'extraction des composés bioactifs des algues rouges variait selon le solvant utilisé. Le méthanol était généralement le meilleur solvant pour extraire le contenu phénolique total et les molécules responsables de l'activité antioxydante, tandis que l'éthanol et l'acétone étaient plus efficaces pour extraire les composés à effet antimicrobien spécifique. De nombreuses études antérieures montrent qu'il est relativement facile d'évaporer le solvant après extraction, ce qui permet de concentrer l'extrait sans dégrader les composés sensibles à la chaleur ou à l'air, faisant du méthanol un choix privilégié pour les nouvelles recherches.

II. L'effet anti-biofilm des extraits des algues rouges

II.1. Les souches bactériennes

Le tableau 3, les figures 17 et 18 montrent les résultats des mesures de la densité optique, par le test Élixa à 490nm, de l'incubation après 24h à 37°C, des plaques de TCP (plaque de témoin) contenant les deux souches pathogènes humaines (contrôles positifs) et le bouillon BHIB stérile (contrôle négatif).

Tableau 3. Mesure la densité optique des souches bactériennes et le bouillon de la culture stériles par le test Élixa

	Bouillon BHIB stérile	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
A	0,069	0,227	0,442
B	0,066	0,299	0,476
C	0,07	0,235	0,327
D	0,074	0,356	0,265
E	0,071	0,298	0,166
F	0,074	0,465	0,42
G	0,068	0,291	0,314
H	0,069	0,507	0,135

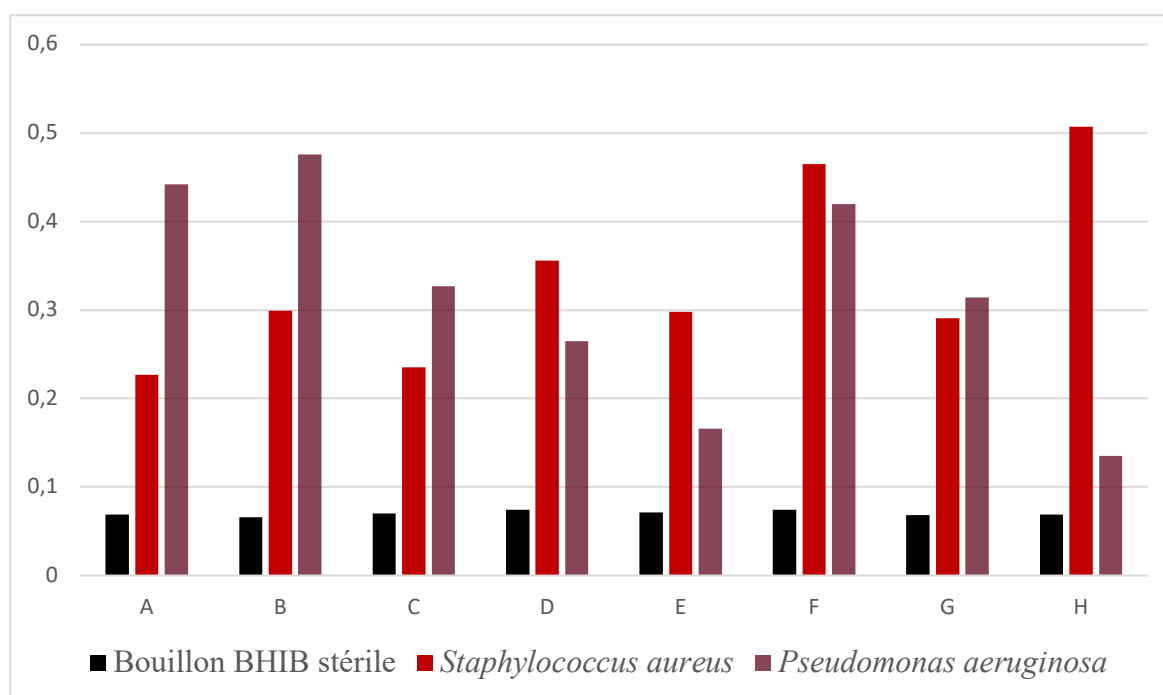


Figure 17. Histogramme représentant les mesures de la densité optique (490 nm) des souches bactériennes *S. aureus*, *P. aeruginosa* et le bouillon BHIB stérile

Les résultats montrent que la densité optique du control négatif (bouillon BHIB stérile) est environ 0,070125 (figure 18) donc ce qui montre dans la figure 17 que cette valeur est même dans toutes les lignes de la plaque TCP. Dans la figure 17, on remarque que la souche de *P.aeruginosa* a une croissance considérable qui décroît progressivement sauf pour les puits F et G qui montrent des piques dus certainement a une erreur de manipulation. La moyenne de densité optique de cette souche est environ de 0,318125, une valeur inférieure à celle de la souche de *S. aureus* qui a une densité optique de 0,33475. Dans cette étude la souche la plus formatrice de biofilm est *S. aureus*.

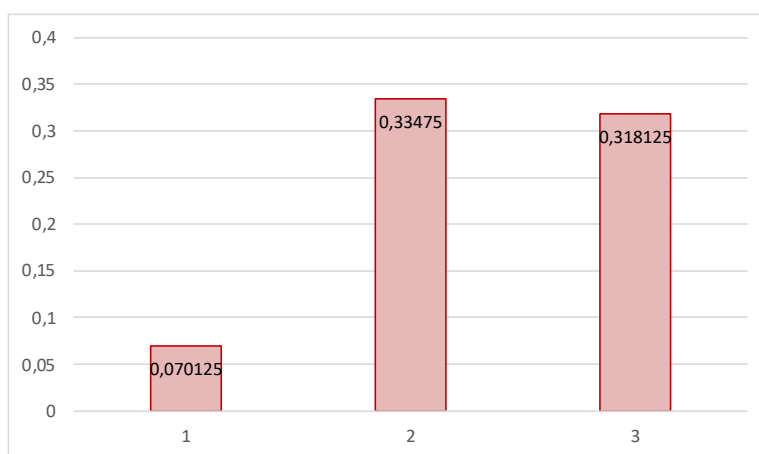


Figure 18. Histogramme montre la moyenne de la densité optique à 490nm des souches bactériennes comparer avec le bouillon BHIB stérile. 1 : le bouillon BHIB stérile, 2 : la souche de *S. aureus* et 3 : la souche de *P. aeruginosa*

La capacité de formation de biofilm peut être influencée par l'environnement d'origine des bactéries. Dans notre cas la souche de *S. aureus* isolée des sondes urinaires a pu développé une capacité accrue à former des biofilms en raison de la nécessité de s'adapter à un environnement différent, avec des conditions favorables à la formation de biofilms en raison de la présence de biomatériaux. Au contraire, *P. aeruginosa* qui a été isolée de plaies de pieds diabétiques peut se comporter différemment en raison des conditions spécifiques des plaies, telles que le niveau d'oxygène, le pH, la disponibilité des nutriments, et la présence de cellules immunitaires. Ces facteurs peuvent influencer négativement la formation de biofilms dans certaines conditions expérimentales.

II.2. L'effet anti-biofilm de la souche *Staphylococcus aureus*

L'effet anti-biofilm a été testé contre la souche pathogène *S. aureus* dans la plaque de 96 puits (les plaques des suspensions) en utilisant la méthode des dilutions des extraits des algues rouges par les solvants. Le bouillon BHIB stériles a été utilisé comme un control négatif alors que la souche de *S. aureus* est un contrôle positif (plaque de témoin). Les résultats sont montrés dans le tableau 4 et les figures 19 et 20 après incubation à 37°C pendant 24h en mesurant la densité optique par Élixa à 490 nm.

Tableau 4. Mesure de la densité optique des différents extraits obtenus contre le pathogène humain *S. aureus* (activité anti-biofilm)

	BHIB stérile	<i>S.aureus</i>	Méthanol	L'éthanol	L'eau
A	0,069	0,227	0,302666667	0,522	0,165666667
B	0,066	0,299	0,226333333	0,147	0,199
C	0,07	0,235	0,160666667	0,144333333	0,278
D	0,074	0,356	0,136333333	0,112	0,159666667
E	0,071	0,298	0,142666667	0,130333333	0,139333333
F	0,074	0,465	0,099666667	0,174333333	0,127666667
G	0,068	0,291	0,112666667	0,131	0,147333333
H	0,069	0,507	0,105333333	0,141666667	0,123333333

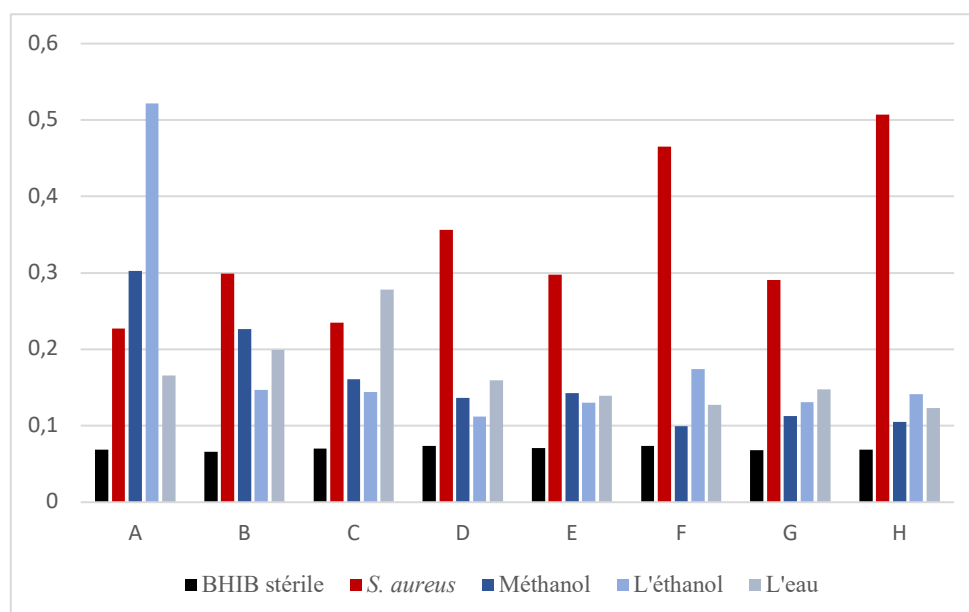


Figure 19. Histogramme de l'activité anti-biofilm de différents solvants contre *S. aureus*

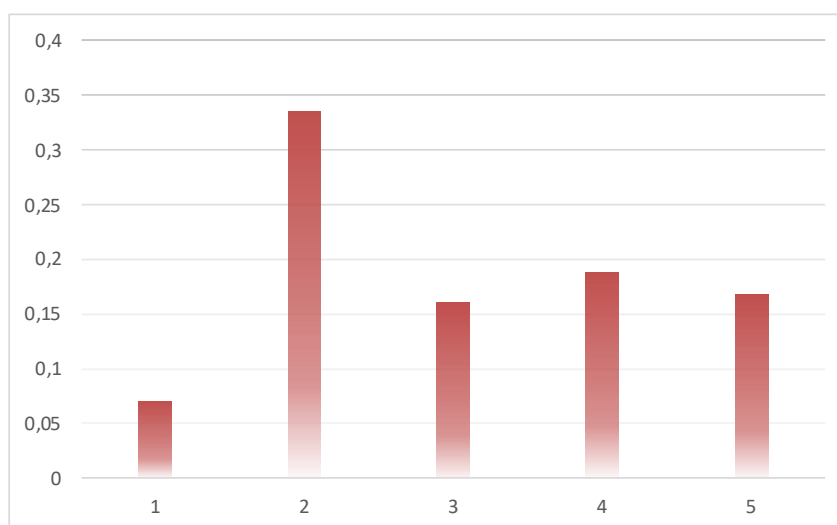


Figure 20. La moyenne de la densité optique mesurée à 490nm pour l'activité anti-biofilm de différents solvants contre *S. aureus*, 1 : BHIB stérile, 2 : *S. aureus*, 3 : le méthanol, 4 : l'éthanol et 5 : l'eau distillée

D'après les résultats obtenus en remarquant dans la figure 19 que les extraits des algues rouges inhibent la formation de biofilm par *S. aureus* à partir de la catégorie de B à H, tandis que la catégorie A en observent qu'il y a aucune inhibition sauf par les extraits de l'eau distillée qu'ils ont une inhibition modérée. Les extraits par le méthanol montrent une inhibition notable de la souche par rapport l'eau distillée. En observant la croissance des souches exposées aux extraits éthanoliques, on constate une diminution progressive jusqu'à la colonne D. Les colonnes E et F montrent une augmentation de la croissance, suivie d'une diminution en G, puis d'une nouvelle augmentation en H. En ce qui concerne les souches traitées avec des extraits d'eau distillée, une décroissance est observée dans la première colonne (A), suivie d'une alternance entre croissance et décroissance. Ces variations peuvent s'expliquer par des erreurs de manipulation.

Selon **Freile-Pelegrin et Morales (2004)**, les algues rouges ont été décrit comme une bonne source des molécules bioactifs, qui ont une activité significative contre les bactéries à Gram positives. Dans l'étude de **Padmakumar et Ayyakkannu (1997)**, l'activité des algues était très faible, inhibant uniquement *S. aureus*. Une raison possible à cela pourrait être la volatilité des ingrédients actifs, qui peuvent être perdus lors du processus de séchage des algues.

Les résultats de **Narayani et al. (2011)** ont montré que l'extrait méthanolique présentait une activité maximale contre *S. aureus* (17 mm) testé par méthode de diffusion sur milieu Muller Hinton.

Ce qui confirme que dans notre étude le méthanol a vraiment une meilleure inhibition contre *S. aureus*. (**Figure 20**)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a également été établie dans notre étude afin d'évaluer l'efficacité des extraits d'algues rouges dans l'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus*. En comparant les absorbances de *S. aureus* dans des conditions de traitement avec celles du contrôle positif, on a obtenu les valeurs de CMI, qui représentent la croissance bactérienne sans intervention. Chaque échantillon a été soumis à des extraits d'algues rouges dilués dans divers solvants (méthanol, éthanol et eau) et les absorbances ont été mesurées. Les résultats ont montré que le méthanol (0,0997 µL/ml) présentait la CMI la plus faible, suivi de l'eau (0,123 µL/ml) et de l'éthanol (0,112 µL/ml). Les concentrations minimales d'extraits requises pour inhiber de manière significative la croissance de *S. aureus* sont indiquées par ces valeurs, ce qui met en évidence l'efficacité variable des solvants dans l'extraction des composés bioactifs des algues rouges.

Aussi, en raison de leur capacité à altérer la paroi cellulaire et à inhiber les enzymes essentielles impliquées dans la synthèse des protéines et des acides nucléiques, *S. aureus* est souvent sensible aux composés polyphénoliques et flavonoïdes. Les substances extraites à partir du méthanol peuvent avoir une action plus précise contre cette bactérie Gram positive, tandis que certains polyphénols possèdent des propriétés antioxydantes qui peuvent provoquer un stress oxydatif dans les cellules de *S. aureus*, ce qui entraîne des dommages cellulaires et une inhibition de la croissance bactérienne.

II.3. L'effet anti-biofilm de la souche *Pseudomonas aeruginosa*

L'activité anti-biofilm a été testée contre la souche pathogène *P. aeruginosa* a été testé dans les mêmes conditions que la première souche, les résultats sont présentés dans le tableau 5, figure 21 et 22.

Tableau 5. Mesure de la densité optique des différents extraits obtenus contre le pathogène humain *Pseudomonas aeruginosa* (activité anti-biofilm).

	BHIB stérile	<i>P. aeruginosa</i>	Méthanol	L'éthanol	L'eau
A	0,069	0,442	0,325333333	0,238	0,20966667
B	0,066	0,476	0,191	0,216333333	0,12
C	0,07	0,327	0,170333333	0,177333333	0,15266667
D	0,074	0,265	0,136666667	0,176666667	0,12433333
E	0,071	0,166	0,133	0,161	0,10333333
F	0,074	0,42	0,140666667	0,148333333	0,1
G	0,068	0,314	0,109	0,128	0,10033333
H	0,069	0,135	0,127666667	0,135	0,10333333

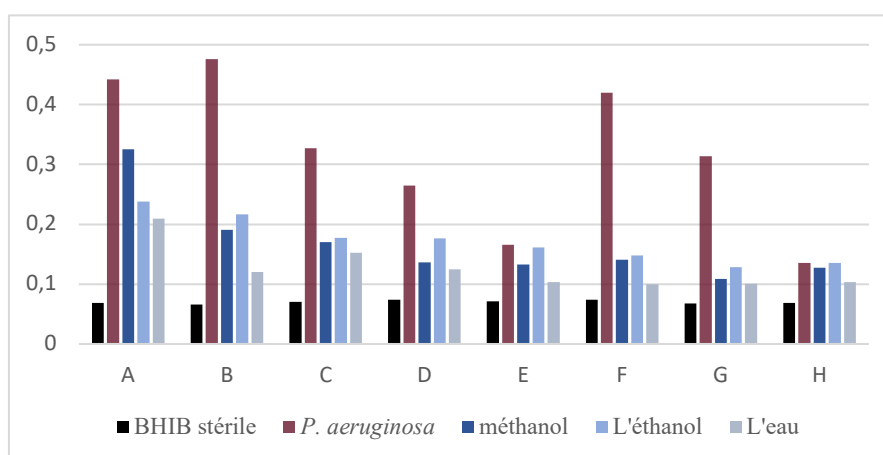


Figure 21. Histogramme de l'activité anti-biofilm de différents solvants contre *P. aeruginosa*

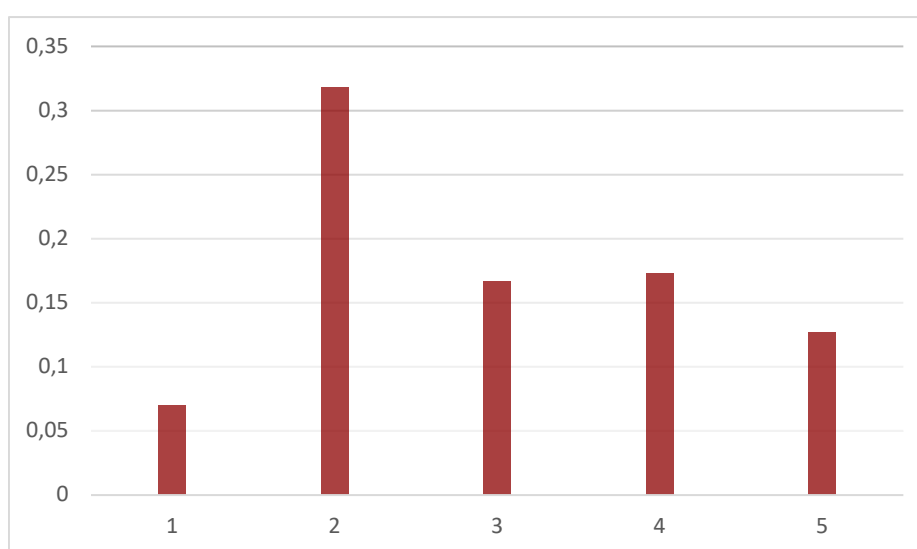


Figure 22. La moyenne de la densité optique mesurée à 490 nm pour l'activité anti-biofilm de différents solvants contre *P. aeruginosa*, 1 : BHIB stérile, 2 : *P. aeruginosa*, 3 : Le méthanol, 4 : l'éthanol et 5 : l'eau distillée

Les résultats obtenus indiquent que les extraits des algues par les solvants utilisés inhibent de manière significative la formation de biofilm par *P. aeruginosa*, la figure 21 et la figure 22 montre que le méthanol a une inhibition modérée dans tous les échantillons, l'inhibition par l'éthanol été moins efficace par rapport le méthanol par contre l'eau distillée montre qu'elle a une inhibition notable dans la plupart des échantillons, souvent comparable ou légèrement meilleure que celle du méthanol et de l'éthanol.

Dans la figure 21, on observe que la croissance de la souche diminue sous l'effet des extraits de méthanol jusqu'aux colonnes F et G. Pour les extraits d'éthanol, il y a une diminution notable de la croissance dans toutes les colonnes, à l'exception de la colonne F. Concernant les extraits d'eau distillée, on remarque un pic de croissance dans la colonne C, ce qui pourrait s'expliquer par des erreurs de manipulation. À partir des colonnes E jusqu'à H, la croissance se stabilise.

Les résultats de **Narayani et al. (2011)** ont montré que l'extrait méthanolique présentait une activité maximale contre *P. aeruginosa* (14 mm) testé par méthode de diffusion sur milieu Muller Hinton. En revanche dans notre étude les extraits par l'eau distillée ayant une inhibition plus efficace contre le pathogène *P. aeruginosa*.

Selon **Cox et al. (2010)**, l'extrait à l'éthanol a montré une efficacité significative contre *P. aeruginosa* (taux d'inhibition de 93,89 %), et les autres extraits à l'acétone ont montré une activité antimicrobienne significativement plus élevée que l'extrait au méthanol. Autre espèce de l'algue rouge extraire par le méthanol avait une inhibition substantielle contre la souche car elle était très sensible.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été calculée dans notre étude afin d'évaluer l'efficacité des extraits d'algues rouges dans l'inhibition de la croissance de *P. aeruginosa*. On a obtenu les valeurs de CMI en comparant les concentrations de *P. aeruginosa* dans des conditions de traitement avec celles du contrôle positif, ce qui indique la croissance bactérienne sans intervention. Les absorbances ont été mesurées pour chaque échantillon après avoir été exposés à des extraits d'algues rouges dilués dans divers solvants (méthanol, éthanol et eau). Il a été constaté que l'eau (0,1 µL/ml) présentait la CMI la plus faible, suivie du méthanol (0,127 µL/ml) et de l'éthanol (0,128 µL/ml). Les concentrations minimales d'extraits requises pour inhiber de manière significative la croissance de *P. aeruginosa* sont indiquées par ces valeurs, ce qui fait

ressortir l'efficacité variable des solvants dans l'extraction des composés bioactifs des algues rouges.

La bactérie à Gram négative *P. aeruginosa* possède une paroi cellulaire plus complexe, ce qui lui confère une plus grande résistance aux composés hydrophobes. Les polysaccharides et autres substances hydrophiles extraites par l'eau peuvent attaquer des mécanismes particuliers de *P. aeruginosa*, tels que la perturbation de la membrane externe et une altération de sa perméabilité, pouvant même inhiber les systèmes de transport membranaire de *P. aeruginosa*, ce qui a un impact sur l'absorption de nutriments et d'autres substrats essentiels à la survie bactérienne. Il est possible que certains composés extraits par l'eau perturbent les signaux moléculaires impliqués dans le sens du quorum, ce qui perturbe la communication cellulaire et la coordination de la virulence bactérienne.

Les résultats obtenus permettent de conclure que les algues rouges possèdent des molécules bioactives qui peuvent inhiber la formation des biofilms par les bactéries à gram positives et à Gram négatives, vu que les valeurs de l'inhibition non pas été assez faible donc les algues dans cette étude ne peuvent pas tuer ou inhiber les bactériens à 100% mais ils ont un pouvoir de réduire la virulence de ces bactéries pathogènes. La différence dans les propriétés inhibitrices du méthanol et de l'eau distillée peut être attribuée à plusieurs facteurs. Le méthanol et l'eau distillée extraient différents composés des algues qui ont des activités biologiques différentes. Certains de ces composés peuvent être particulièrement efficaces contre les bactéries à Gram positives tels que *S. aureus*, tandis que d'autres peuvent être plus efficaces contre les bactéries à Gram négatives comme *P. aeruginosa* en raison de leurs structures chimiques et même il peuvent avoir des différents mécanismes d'action car certains composés peuvent interférer avec des processus métaboliques spécifiques des bactéries, tandis que d'autres peuvent perturber les membranes cellulaires ou avoir d'autres modes d'action spécifiques. De plus, les conditions d'extraction peuvent également jouer un rôle tels que les composés solubles dans le méthanol peuvent être extraits plus efficacement dans un environnement méthanolique, tandis que les composés solubles dans l'eau peuvent être extraits plus efficacement dans un environnement aqueux.

Enfin, la différence d'efficacité inhibitrice entre le méthanol et l'eau distillée peut être due aux différences dans les composés extraits, les conditions d'extraction et le mécanisme d'action des composés extraits sur les bactéries spécifiques. Aussi, un solvant peut avoir une extraction supérieure dans un genre d'algues rouges alors que non dans un autre.

Conclusion et

Perspectives

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au cours de cette étude, l'activité anti-biofilm des algues rouges a été examinée. Ces organismes marins n'ont pas été précédemment soumis à une étude phytochimique approfondie. Nous avons donc essayé de contribuer par notre recherche à leur effet antibiofilm.

En premier lieu, on a procédé à l'obtention des différents extraits des algues rouges en les macérant avec trois solvants différents (méthanol, éthanol et eau distillée).

Deux souches microbiennes pathogènes humaines, formatrices de biofilm *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aerogenosa*, ont été testées vis-à-vis de l'activité anti-biofilm des extraits des algues rouges.

En nous référant aux résultats obtenus, nous confirmons clairement que les algues rouges sont très riches en molécules bioactifs car leurs extraits avaient une action inhibitrice sur les biofilms formés des deux souches testées, mais le pourcentage d'inhibition varie d'une souche à l'autre en fonction de la nature et de la concentration de l'extrait.

Afin de confirmer les résultats mis en évidence Il faudra effectuer des essais supplémentaires, pour cela, on propose:

- Une étude phytochimique et biologique approfondie de ces organismes marins serait intéressante pour identifier les molécules responsables des activités observées, ce qui permettrait d'élargir l'éventail thérapeutique des médicaments à base de ces algues rouges.
- D'étendre la gamme des espèces microbiennes examinées, comme les bactéries, les levures, les moisissures et même les virus afin de rechercher d'éventuels effets synergiques.
- D'identifier d'autres propriétés biologiques des algues rouges examinées telles que l'activité anti-inflammatoire, antioxydante, antifongique, antivirale...
- D'identifier le genre ou la famille des Rhodophycées qui présentent une activité antimicrobienne ou antibiofilm réputée.
- Évaluer l'efficacité des autres espèces d'algues marines (vertes et brunes) et les comparer avec les algues rouges.

*Références
Bibliographiques*


Les références bibliographiques



1. Abirami, R. G., & Kowsalya, S. (2012). Phytochemical screening, microbial load and antimicrobial activity of underexploited seaweeds. *International Reasearch Journal of Microbiology*, 3(10), 328-332.
2. Akretche, D., & Mokrani , S. (2020). Etude bibliographique portant sur les activités biologiques des algues marines . Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri.
3. Aliane, S. (2018). Contribution à l'étude de la formation de biofilm par des souches industrielles de *Streptococcus thermophilus*. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.
4. Aliane, S. (2018). Contribution à l'étude de la formation de biofilm par des souches industrielles de *Streptococcus thermophilus*. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.
5. Alshalmani, S. K., Zobi, N. H., & Bozakouk, I. H. (2014). Antibacterial activity of Libyan seaweed extracts. *International journal of pharmaceutical science and research*, 5(12), 5425.
6. Anand, S., Singh, D., Avadhanula, M., & Marka, S. (2014). Development and control of bacterial biofilms on dairy processing membranes. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(1), 18-33.
7. Arhab, R. (2015). Valoristaion nutritionnelle d'algues marines du littoral Algérien chez le ruminant via des méthodes chimiques, biologiques et moléculaires.
8. Aslam, M. N., Bhagavathula, N., Paruchuri, T., Hu, X., Chakrabarty, S., & Varani, J. (2009). Growth-inhibotry effects of a mineralized extract from the red marine algae, *Lithothamnion calcareum*, on Ca²⁺- sensitive and Ca²⁺-resistant human colon carcinoma cells. *Cancer Letters*, 283(2), 186-192.
9. Aumeran, C., Balestrino, D., & Forestier, C. (2020). Biofilms bactériens et santé. *Encyclopédie de l'environnement*, 1-7.



10. Barbeau, J., Gauthier , C., & Payment, P. (1998). Biofilms, infectious agents, and dental unit waterlines: a review. *Canadian journal of microbiology*, 44(11), 1019-1028.
11. Beloin, C., Roux , A., & Ghigo, J. M. (2008). *Escherichia coli* biofilms. *Bacterial biofilms*, 249-289.

12. Bengueddour, Y., El Hani, S., El Ibaoui, H., El Ayadi, R., & Brhadda, N. (2014). Etude de l'activité antioxydante de *Gelidium Sesquipedale* par chromatographie liquide haute performance. *Nature & Technology*, 10, 29-33.
 13. Benkhaldi, D. (2017). Activité antimicrobienne des extraits végétaux application à l'inhibition de biofilm des bacilles thermophiles d'origine laitière. Doctoral dissertation.
 14. Benkhaldi, D. (2017). Activité antimicrobienne des extraits végétaux application à l'inhibition de biofilm des bacilles thermophiles d'origine laitière. Doctoral dissertation.
 15. Bhuyar, P., Rahim, M. H., Sundararaju, S., Maniam, G. P., & Govindan, N. (2020). Antioxidant and antibacterial activity of red seaweed *Kappaphycus alvarezii* against pathogenic bacteria. *Global journal of environmental science and management*, 6(1), 47-58.
 16. Bjarnsholt, T., Alhede, M., Alhede, M., Eickhardt-Sorensen, S. R., Moser, C., Kuhl, M., & Hoiby, N. (2013). The *in vivo* biofilm. *Trends in microbiology*, 21(9), 466-474.
 17. Bosgiraud, C. (2003). Microbiologie générale et santé. France.
 18. Bouchena, C., & Ouaffai, K. (2022). Extraction et évaluation de l'activité antifongique des molécules phytochimiques de la caroube. Doctoral dissertation, Université Ibn Khaldoun-Tiaret.
 19. Bououedine, M., Chérifi, S., Boukhalfa, N., & Bouhous, M. E. (2007). Etude des polysaccharides des algues marines. Doctoral dissertation, Université de Jijel.
 20. Bourgougnon, N., & Gervios, A. (2021). Les algues marines : biologie, écologie et utilisation.
-
- 
21. Carlucci, M. J., Scolaro, L. A., Errea, M. I., Matulewicz, M. C., & Damonte, E. B. (1997). Antiviral activity of natural sulphated galactans on herpes virus multiplication in cell culture. *Planta medica*, 63(05), 429-432.
 22. Chan, C. X., Ho, C. L., & Phang, S. M. (2006). Trends in seaweed research. *Trends in Plant Science*, 11(4), 165-166.
 23. Costa, L. S., Fidelis, G. P., Oliveira, R. M., Sabry, D. A., Camara, R. B., & Rocha, H. A. (2010). Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 64(1), 21-28.
 24. Cox, S., Abu-Ghannam, N., & Gupta, S. (2010). An assessment of antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds.



25. Dawczynski, C., Schubert, R., & Janreis, G. (2011). Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food chemistry*, 103(3), 891-899.
26. Donlan, R. M. (2001). Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clinical infectious diseases*, 33(8), 1387-1392.
27. Donlan, R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*, 8(9), 881.
28. Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 167-193.
29. Dumas, C. (2007). Catalyse électro-microbienne dans les piles à combustible. Doctoral dissertation.



30. Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S., & Thomas, T. (2013). The seaweed holobiont: understanding seaweed-bacteria interactions. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(3), 462-476.
31. El Shafay, S. M., Ali, S. S., & El-Sheekh, M. M. (2016). Antimicrobial activity of some seaweeds species from Red sea, against multidrug resistant bacteria. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 42(1), 65-74.



32. Faller, H. (2011). Les applications et la toxicité des algues marines. Thèse de doctorat, Université de Limoges.
33. Floc'h, J. Y. (2010). Les secrets des algues.
34. Freile-Pelegrin, Y., & Morales, J. L. (2004). Antibacterial activity in marine algae from coast of Yucatan, Mexico.



35. Garon-Lardière, S. (2004). Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Doctoral dissertation, Université de Bretagne Occidentale.

36. Garrett, T. R., Bhakoo, M., & Zhang, Z. (2008). Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in natural science*, 18(9), 1049-1056.
37. Gheda, S., El-Sheekh, M., & Abou-Zied, A. (2018). *In vitro* anticancer activity of polysaccharide extracted from red alga *Jania rubens* against breast and colon cancer cell lines. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 11(10), 583-589.
38. Goudot, S. (2012). Étude des facteurs d'influence de l'écologie de *Naegleria fowleri* dans les biofilms. Doctoral dissertation, Université de Lorraine.
39. Goudot, S. (2012). Étude des facteurs d'influence de l'écologie de *Naegleria fowleri* dans les biofilms. Doctoral dissertation, Université de Lorraine.
40. Gressler, V., Yokoya, N. S., Fujii, M. T., Colepicolo, P., Mancini Filho, J., Torres, R. P., & Pinto, E. (2010). Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four Brazilian red algae species. *Food chemistry*, 120(2), 585-590.



41. Hillier, S. G., & Lathe, R. (2019). Terpenes, hormones and life: isoprene rule revisited. *Journal of Endocrinology*, 242(2), 9-22.
42. Hoiby, N. (2017). A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *Apmis*, 125(4), 272-275.
43. Hoiby, N., Ciofu, O., Johansen, H. K., Song, Z. J., Moser, C., Jensen, P. O., & Brajarnsholt, T. (2011). The clinical impact of bacterial biofilms. *International journal of oral science*, 3(2), 55-65.
44. Holdt, S. L., & Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of applied phycology*, 23, 543-597.
45. Hubas, C. (2018). Biofilms, tapis et agrégats microbiens: vers une vision unificatrice. Doctoral dissertation, Muséum National d'Histoire Naturelle.
46. Hung, L. D., & Trinh, P. T. (2021). Structure and anticancer activity of a new lactin from the cultivated red alga, *Kappaphycus striatus*. *Journal of natural medicines*, 75, 223-231.
47. Hwang, E. S., & Do Thi, N. (2014). Effects of extraction and processing methods on antioxidant compound contents and radical scavenging activities of laver (*Porphyra tenera*). *Preventive nutrition and food science*, 19(1), 40.



48. Jio, G., Yu, G., Zhang, J., & Ewart, H. S. (2011). Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Marine drugs*, 9(2), 196-223.

49. Juin, C. (2015). Extraction, identification et caractérisation pharmacologique de pigments de *Porphyridium purpureum* sur cellules de mélanome humain. Doctoral dissertation, Université de la Rochelle.



50. Khen, A. (2020). An illustrated study guide.

51. khotimchenko, M., Tiasto, V., Kalitnik, A., Begun, M., Khotimchenko, R., Leonteva, E., & Khotimchenko, Y. (2020). Antitumor potential of carrageenans from marines red algae. *Carbohydrate Polymers*, 246, 116568.

52. kokare, C. R., Chakraborty, S., khopade, A. N., & Mahadik, K. R. (2009). Biofilm: importance and applications.



53. Laberche, J. C. (2020). Biologie végétale (3ème éd).

54. Lemoine, M., & Helbert, W. (2007). Dégradation enzymatique en phase hétérogène des polysaccharides: exemple des agarases et des carraghénases. *Journal de la société de biologie*, 201(3), 291-296.

55. Li, Y., Sun, S., Pu, X., Yang, Y., Zhu, F., Zhang, S., & Xu, N. (2018). Evaluation of antimicrobial activities of seaweed resources from Zhejiang Coast, China. *Sustainability*, 10(7), 2156.

56. Liu, X., Yao, H., Zhao, X., & Ge, C. (2023). Biofilm formation and control of foodborne pathogenic bacteria. *Molecules*, 28(6), 2432.



57. Mah, T. F., & O'Toole, G. A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in microbiology*, 9(1), 34-39.

58. Marfaing, H. (2017). Qualités nutritionnelles des algues, leur présent et futur sur la scène alimentaire. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52(5), 257-268.

59. Marfaing, H., & Lerat, Y. (2004). Les algues dans notre alimentation: intérêt nutritionnel et utilisations. *Revue de nutrition pratique*, 1-9.

60. Marfaing, H., & Lerat, Y. (2007). Les algues ont-elles une place en nutrition ? *Phytothérapie*, 5, 2-5.

61. Mion, S., Rémy, B., Plener, L., Chanrière, É., & Daudé, D. (2019). Quorum sensing et quorum quenching: comment bloquer la communication des bactéries pour inhiber leur virulence? *médecine/sciences*, 35(1), 31-38.

62. Mishra, V. K., Temelli, F., Oraikul, B., Shacklock, P. F., & Craigie, J. S. (1993). Lipids of the red alga, *Palmaria palmata*.

63. Moubayed, N. M., Al Hourri, H. J., Al Khulaifi, M. M., & Al Farraj, D. A. (2017). Antimicrobial, antioxidant properties and chemical composition of seaweeds collected from Saudi Arabia (Red sea and Arabian Gulf). *Saudi journal of biological science*, 24(1), 162-169.
64. Mzibra, A., Aasfar, A., Douira, A., Kadmiri, I. M., & Bamouh, A. (2022). Utilisation des polysaccharides des algues marines comme biostimulants en horticulture. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et vétérinaires*, 10(2), 229-233.



65. Nabors, M. W. (2008). Biologie végétale : structures, fonctionnement, écologie et biotechnologies. *Pearson Education*.
66. NafissaChabni, A. A., Moussouni, A., Fatmi, A., Azzaoui, H., Otmani, S., Smahi, S. M., & Meguenni, K. (2019). Place de l'infection nosocomiale dans la morbi-mortalité neonatale" Hopital mere enfant Tlemcen Algérie. *Lebanese science journal*, 20(3), 503.
67. Narayani, C. G., Arulpriya, M., Ruban, P., Anantharaj, K., & Srinivasan, R. (2011). *In vitro* antimicrobial activities of seaweed extracts against human pathogens. *Journal of pharmacy research*, 4(7), 2076-2077.
68. Nikolova, B., Semkova, S., Tsoneva, I., Antov, G., Ivanova, J., Vasileva, I., & Kabaivanova, L. (2019). Characterization and potential antitumor effect of a heteropolysaccharide produced by the red alga *Porphyridium sordidum*. *Engineering in Life Sciences*, 19(12), 978-985.



69. Offoumou, M. R., Gueyraud, R. K., Kigbafori, D. S., Allico, J. D., & Guédé, N. Z. (2019). Procedure d'utilisation d'un évaporateur rotatif. 3.
70. Otto, M. (2013). Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. *Annual review of medicine*, 64, 175-188.
71. Oudiai, M., & Radi, C. (2020). Synthèse sur les activités biologiques des polysaccharides des algues marines. Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri.



72. Padmakumar, K., & Ayyakkannu, K. (1997). Seasonal variation of antibacterial and antifungal activities of the extracts of marine algae from southern coasts of India.
73. Pérez, R. (1997). Ces algues qui nous entourent: conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture. *Editions Quae*.

74. Prigent-Combaret, C., Prensier, G., Le Thi, T. T., Vidal, O., Lejeune, P., & Dorel, C. (2000). Developmental pathway for biofilm formation in curli-producing *Escherichia coli* strains: role of flagella, curli and colanic acid. *Environmental microbiology*, 2(4), 450-464.



75. Rather, M. A., Gupta, K., Bardhan, P., Borah, M., Sarkar, A., Eldiehy, K. S., & Mandal, M. (2021). Microbial biofilm: A matter of grave concern for human health and food industry. *Journal of basic microbiology*, 61(5), 380-395.
76. Raven, P. H., Eichhorn, S. E., & Evrardt, C. (2007). Biologie végétale. *De Boeck Supérieur*.
77. Raven, P. H., Evert, R. F., & Eichhorn, S. E. (2000). Biologie végétale (6ème éd).
78. Richard, A. A. (2016). Production pilote de polysaccharides sulfatés issus de macroalgues marines à visées anti-coagulante et cosmétique anti-age. Doctoral dissertation, Université de Rochelle.
79. Roux, A., & Ghigo, J. M. (2006). Les biofilms bactériens. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France, 159(3), 261-268.



80. Salhi, A., & Boussaha, C. (2019). Valorisation de la biomasse algale de l'Algérie potentialités pharmacologiques. Doctoral dissertation.
81. Sauer, K., Stoodley, P., Geores, D. M., Hall-stoodley, L., Burmolle, M., Stewart, P. S., & Bjarnsholt, T. (2022). The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature reviews microbiology*, 20(10), 608-620.
82. Shanmughapriya, S., Manilal, A., Sujith, S., Selvin, J., Kiran, G. S., & Natarajaseenivasan, K. (2008). Antimicrobial activity of seaweeds extracts against multiresistant pathogens. *Annals of Microbiology*, 58, 535-541.
83. Shi, Q., Wang, A., Lu, Z., Qin, C., Hu, J., & Yin, J. (2017). Overview on the antiviral activities and mechanisms of marine polysaccharides from seaweeds. *Carbohydrate Research*, 453, 1-9.
84. Smit, A. J. (2004). Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. *Journal of applied phycology*, 16(4), 245-262.
85. Stewart, P. S. (2002). Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. *International journal of media microbiology*, 292(2), 107-113.
86. Stewart, P. S., & Costerton, J. W. (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *The lancet*, 358(927), 135-138.



87. Tandina, D. (2017). Les polysaccharides extraits des macro-algues: etude bibliographique.
88. Tolker-Nielsen, T. (2015). Biofilm development. *Microbial Biofilms*, 51-66.
89. Toty, A. A., Guessenmd, N., Bahi, C., Kra, A. K., Tokore, D. A., & Dosso, M. (2013). Évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la société royale des sciences de liège*.
90. Tremblay, Y. D., Hathroubi, S., & Jacques, M. (2014). Les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian journal of veterinary research*, 78(2), 110-116.



91. Van Loosdrecht, M. C., Eikelboom, D., Gjaltema, A., Mulder, A., Tjihuis, L., & Heijnen, J. J. (1995). Biofilm structure. *Water Science and Technology*, 32(8), 35-43.



92. Wang, W., Wang, S. X., & Guan, H. S. (2012). Tha antiviral activities and mechanisms of marine polysaccharides: an overview. *Marine drugs*, 10(2), 2795-2816.



93. Yuan, Y. V., & Walsh, N. A. (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. *Food and chemical toxicology*, 44(7), 1144-1150.



94. Zehlila, A. (2017). Caractéristaion structurale et fonctionnelle des métabolites de l'algue verte *Ulva Rigida* au moyen d'une approche protéomique. Doctoral dissetation, Normondie.

Abstract

This thesis explores the anti-biofilm properties of crude extracts from red algae and their effectiveness against various pathogenic bacterial biofilms. The research question focuses on developing a new therapeutic potential to inhibit biofilm formation by bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, which is a major public health concern due to their increasing resistance to antibiotics. To address this question, we prepared and analyzed crude extracts from red algae collected in the Beni Saf Ain Témouchent region. *In vitro* tests were conducted to evaluate their ability to inhibit biofilm formation and growth. The results confirmed the presence of bioactive compounds in the red algae extracts that significantly reduce biofilm formation by *S. aureus* and *P. aeruginosa*. In summary, the crude extracts from red algae offer promising potential as natural anti-biofilm agents, providing an alternative to traditional antibiotic treatments. Further research is needed to identify the specific bioactive compounds and evaluate their action on a variety of microorganisms.

Keywords : Red algae, Anti-biofilm, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, Bioactive compounds, Antibiotic resistance.

ملخص

يستكشف هذا البحث خصائص المستخلصات الخام من الطحالب الحمراء وقدرتها على مكافحة الأغشية الحيوية للبكتيريا الممرضة المختلفة. تتمحور سؤال البحث حول تطوير قدرة علاجية جديدة لمنع تكوين الأغشية الحيوية بواسطة بكتيريا مثل المكورات العنقودية الذهبية و الزائفة الزنجارية و التي تشكل تحديًا كبيرًا للصحة العامة بسبب مقاومتها المتزايدة للمضادات الحيوية. للإجابة على هذا السؤال، قمنا بإعداد وتحليل مستخلصات خام من الطحالب الحمراء التي جُمعت من منطقة بني صاف عين تيموشنت. تم إجراء اختبارات في المختبر لتقييم قدرتها على منع تكوين ونمو الأغشية الحيوية حيث أكدت النتائج وجود مركبات نشطة بيولوجيًا في مستخلصات الطحالب الحمراء التي تقل بشكل كبير من تكوين الأغشية الحيوية بواسطة المكورات العنقودية الذهبية و الزائفة الزنجارية. خلاصة القول، تقدم المستخلصات الخام من الطحالب الحمراء إمكانيات واعدة كعوامل طبيعية مضادة للأغشية الحيوية، مما يوفر بديلًا للعلاجات التقليدية بالمضادات الحيوية. من الضروري إجراء أبحاث إضافية لتحديد المركبات النشطة بيولوجيًا وتقييم تأثيرها على مجموعة متنوعة من الكائنات الحية الدقيقة.

الكلمات المفتاحية: الطحالب الحمراء، مضاد للأغشية الحيوية، المكورات العنقودية الذهبية، الزائفة الزنجارية، المركبات النشطة بيولوجيًا، مقاومة المضادات الحيوية.

Résumer

Ce mémoire explore les propriétés anti-biofilm des extraits bruts d'algues rouges et leur efficacité contre divers biofilms bactériens pathogènes. La question de recherche réside dans le développement d'un nouveau potentiel thérapeutique pour inhiber la formation de biofilms par des bactéries telles que *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, qui constitue un problème majeur de santé publique en raison de leur résistance croissante aux antibiotiques. Pour répondre à cette question, nous avons préparé et analysé des extraits bruts d'algues rouges collectés dans la région de Beni Saf Ain Témouchent. Des tests *in vitro* ont été réalisés pour évaluer leur capacité à inhiber la formation et la croissance de biofilms. Les résultats ont confirmé la présence de composés bioactifs dans les extraits d'algues rouges qui réduisent considérablement la formation de biofilms de *S. aureus* et de *P. aeruginosa*. En résumé, les extraits bruts d'algues rouges offrent un potentiel prometteur en tant qu'agents naturels anti-biofilm, offrant ainsi une alternative aux traitements antibiotiques classiques. Il est essentiel de mener des recherches supplémentaires afin de déterminer les composés bioactifs spécifiques et d'évaluer leur action sur une variété de microorganismes.

Mots clés : Algues rouges, Anti-biofilm, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, composé bioactifs et la résistance aux antibiotiques.

