

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

Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option

Science des aliments

Présenté par

GUEZZEN Abdeldjelil

Intitulé

Étude de la variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits bruts de l'algue brune *Cystoseira stricta* de la côte ouest algérienne.

Évaluation de la capacité antioxydante totale.

Soutenu le 23 juin 2014 devant le jury composé de:

Mme. BENDIMERAD N.	Professeur à l'Université de Tlemcen	Présidente
Mme. BENGUEDDA W.	Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen	Examinatrice
Mr. BELYAGOUBI L.	Maître assistant à l'Université de Tlemcen	Examineur
Mme. BELYAGOUBI-BENHAMMOU N.	Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen	Promotrice

Remerciements

Comme nous le faisons, et nous le ferons toujours, nous remercions, incessamment, le bon Dieu qui nous a accordé courage, patience et volonté pour pouvoir verser cette goutte dans l'océan de la science.

Ce travail de recherche a été effectué au Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA), du département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, de l'Université Abou BEKR BELKAID-TLEMCEEN, sous la direction de Madame BELYAGOUBI Née BENHAMMOU N.

Je tiens particulièrement à remercier Madame BELYAGOUBI Née BENHAMMOU N., Maître de conférences B à l'Université de Tlemcen, Département de Biologie, pour avoir encadré et dirigé ce travail, tout au long de sa réalisation, pour ses précieux conseils et qu'elle puisse voir en ce travail l'expression de ma profonde gratitude.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à Mme. BENDIMERAD N. Professeur à l'Université de Tlemcen, Département de Biologie, m'avoir fait honneur de présider ce jury.

J'exprime mes vifs remerciements à Mme. BENGUEDDA W. Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen, Département de Biologie, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

J'exprime mes vifs remerciements à Mr. BELYAGOUBI L. Maître assistant à l'Université de Tlemcen, Département de Biologie, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je ne saurai oublier de remercier les doctorants du laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA), Département de Biologie, Université de Tlemcen, je cite ici: Mlle BENMAHDJOUB M, Mlle AISSAOUI G et Mme KANOUN K, Pour leurs gentillesse et leurs aides dans la réalisation de ce modeste travail.

ملخص

في إطار البحث عن مركبات طبيعية جديدة ذات فعالية بيولوجية، اهتمنا بدراسة التغيرات الموسمية للفعالية المضادة للميكروبات للمستخلصات الخامة الميثانولية و الإيثيرية للطحلب البني من الساحل الغربي الجزائري *Cystoseira stricta*. تعيين المركبات الفينولية (الفينولات الكلية، الفلافونويدات و التانات المكثفة) و مقدار القدرة الكلية المضادة للأكسدة لشهر مارس حدد أيضا.

تطورات مردودية المستخلص الخام لمدة سنة، بينت أن المردودية الأعلى كانت في شهر جانفي بالنسبة للميثانول وفي شهر جوان بالنسبة للإيثير ثنائي الإيثيل بـ 11.235 و 1.858 % على التوالي.

محتويات الفينولات الكلية، الفلافونويدات و التانات المكثفة مرتفعة في المستخلص الميثانولي قدرت بـ 10.142 ± 0.163 ميليغرام معادل لحمض الغاليك من غرام للمادة الجافة، 4.910 ± 0.061 و 64.961 ± 2.039 ميليغرام معادل للكاتشين من غرام للمادة الجافة على التوالي بالمقارنة مع المستخلص الإيثيري حيث كانت المحتويات تقدر بـ 3.821 ± 0.0634 ميليغرام معادل لحمض الغاليك من غرام للمادة الجافة بالنسبة للفينولات الكلية، 4.910 ± 0.061 و 64.961 ± 2.039 ميليغرام معادل للكاتشين من غرام للمادة الجافة بالنسبة الفلافونويدات و التانات المكثفة.

المستخلص الميثانولي لديه قدرة كاملة مضادة للأكسدة عالية بقيمة 20.900 ± 2.037 ميليغرام معادل لحمض الأسكربيك من غرام للمادة الجافة مقارنة بالمستخلص الإيثيري الذي لديه 12.624 ± 1.406 ميليغرام معادل لحمض الأسكربيك من غرام للمادة الجافة.

فيما يخص الفعالية المضادة للبكتيريا بطريقة الانتشار على الأغار، المستخلص الميثانولي كان أكثر فعالية من المستخلص الإيثيري على السلالتين *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus*. بالنسبة للمستخلص الميثانولي ذروة الفعالية ضد *S.aureus* كانت في شهر مارس و في شهر أفريل ضد *B.cereus* بقطري تثبيط 18 و 16.5 مم على التوالي. إلى جانب أن السلالة *Candida albicans* كانت أكثر حساسية للمستخلص الإيثيري حيث سجلنا قطر تثبيط قدر بـ 18 مم.

الكلمات المفتاحية: طحلب بني، *Cystoseira stricta*، المركبات الفينولية، القدرة الكلية المضادة للأكسدة، الفعالية المضادة للبكتيريا.

Résumé

Dans le cadre de la recherche de nouveaux composés naturels biologiquement actifs, nous nous sommes intéressés à étudier la variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits bruts méthanolique et étherique de l'algue brune *Cystoseira stricta* de la côte ouest algérienne. Le dosage des composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) et la quantification de la capacité antioxydante totale des extraits du mois de mars ont aussi été déterminés.

L'évolution des rendements en extrait brut durant une année a montré que les valeurs les plus élevées sont celles obtenues dans les mois de janvier et de juin pour le méthanol et l'éther diéthylique avec des pourcentages de 11.235 et 1.858 %, respectivement.

Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés sont élevées dans l'extrait méthanolique avec 10.142 ± 0.163 mg EAG/g MS, 4.910 ± 0.061 et 64.961 ± 2.039 mg EC/ g MS, respectivement comparativement à l'extrait étherique où les teneurs sont de 3.821 ± 0.0634 mg EAG/g MS pour les phénols totaux, 4.910 ± 0.061 mg EC/ g MS pour les flavonoïdes et 64.961 ± 2.039 mg EC/ g MS pour les tanins condensés.

L'extrait brut méthanolique a une meilleure capacité antioxydante totale de l'ordre de 20.900 ± 2.037 mg EAA/g MS par rapport à l'extrait étherique qui a une valeur de 12.624 ± 1.406 mg EAA/g MS.

En ce qui concerne le pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion sur agar, l'extrait brut méthanolique est plus actif que l'extrait étherique sur les deux souches *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Pour l'extrait méthanolique, le sommet est atteint en mois de mars contre *S. aureus* et en mois d'avril contre *B. cereus* avec des diamètres de zones d'inhibition de 18 et 16.5 mm, respectivement. Par ailleurs, *Candida albicans* est plus sensible à l'extrait étherique qu'à l'extrait méthanolique où l'inhibition optimale est observée en mois de mai (18.5 mm de diamètre d'inhibition).

Mots clés : Algue brune, *Cystoseira stricta*, Composés phénoliques, Capacité antioxydante totale, Activité antimicrobienne.

Abstract

Within the framework of the research for new biologically active natural compounds, we were interested to study the seasonal variation of the antimicrobial activity of the methanolic and etheric crude extracts of the brown alga *Cystoseira stricta* of the Algerian west coast. The amount of the phenolic compounds (total phenolics, flavonoid and condensed tannins) and the quantification of the total antioxidant capacity of the extracts of March were also determined.

The evolution of the yields in crude extract during one year showed that the highest values are the ones obtained in January and June for the methanol and the diethyl ether with 11.235 and 1.858 %, respectively.

The contents in total phenols, in flavonoids and in condensed tannins are raised in the methanolic extract with 10.142 ± 0.163 mg GAE / g DM, 4.910 ± 0.061 and 64.961 ± 2.039 mg CE / g DM, respectively compared with the etheric extract where the contents are 3.821 ± 0.0634 mg GAE / g DM for total phenols, 4.910 ± 0.061 mg CE / g DM for flavonoids and 64.961 ± 2.039 mg CE / g DM for condensed tannins.

The crude methanolic extract has a better total antioxidant capacity in the order of 20.900 ± 2.037 mg AAE / g DM with regard to the etheric extract which has a value of 12.624 ± 1.406 mg AAE / g DM.

As regards the antibacterial activity by the method of distribution on agar, the crude methanolic extract was more active than the etheric extract on both *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. For the methanolic extract, the summit is reached in March against *S. aureus* and in April against *B.cereus* with inhibition diameters zones of 18 and 16.5 mm, respectively. Besides, *Candida albicans* is more sensitive to the etheric extract than the methanolic extract where the optimal inhibition is observed in May (18.5 mm in diameter of inhibition).

Keywords: Brown algae, *Cystoseira stricta*, Phenolic compounds, Total antioxidant capacity, Antimicrobial activity.

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

°C : Degré Celsius.

µg: Microgramme.

µm : Micromètre.

ATCC : American Type Culture Collection.

CAT : Capacité antioxydante totale.

CC : Chromatographie sur colonne.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DO : Densité optique.

EAA : Equivalents d'acide ascorbique.

EAG : Equivalents d'acide gallique.

EC : Equivalents de catéchine.

ERO : Espèces réactives oxygénées.

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse.

h : Heure.

HPLC : Chromatographie en phase liquide haute performance.

Km : Kilomètre.

m : Mètre.

M : Molaire.

m/v : Masse/volume.

min : Minute.

ml : Millilitre.

mM : Millimolaire.

MS : Matière sèche.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

SM : spectrométrie de masse.

UFC : Unité Formant Colonie.

UI: Unité internationale.

UV : Ultraviolet.

VP : Voges Proskauer.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Teneurs maximales et minimales des composés en fonction du mois de l'année.....	12
Tableau 2 : Travaux antérieurs sur l'algue <i>Cystoseira stricta</i>	13
Tableau 3 : Caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i>	16
Tableau 4 : Caractère biochimiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	18
Tableau 5 : Situation géographique et bioclimatique de la station d'étude.....	26
Tableau 6 : Souches utilisées dans le test antimicrobien.....	31
Tableau 7 : Liste des antibiotiques et l'antifongique testés sur les bactéries et la levure.....	33
Tableau 8 : Teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.....	39
Tableau 9 : Résultats de la catalase.....	42
Tableau 10 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876.....	43
Tableau 11 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	44
Tableau 12 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341.....	45
Tableau 13 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.....	46
Tableau 14 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603.....	47
Tableau 15 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	48

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique d'une macro-algue brune de type fucale.....	5
Figure 2 : Micro-algues.....	6
Figure 3 : Distribution des algues selon l'intensité lumineuse.....	8
Figure 4 : Photo de <i>Cystoseira stricta</i>	10
Figure 5 : Morphologie de <i>Cystoseira stricta</i>	10
Figure 6 : Schéma du cycle de vie des espèces du genre <i>Cystoseira</i> . A : individu mature, B : extrémité d'une ramification avec des conceptacles, C : conceptacle en coupe transversale, D : gamète femelle, E : gamète mâle, F : zygote et G : zygote avec rhizoïdes.....	12
Figure 7 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au microscope électronique.....	16
Figure 8 : <i>Escherichia coli</i> au microscope électronique.....	17
Figure 9 : <i>Staphylococcus aureus</i> au microscope électronique.....	18
Figure 10 : <i>Klebsiella pneumoniae</i> au microscope électronique.....	19
Figure 11 : <i>Bacillus cereus</i> au microscope électronique.....	20
Figure 12 : <i>Micrococcus luteus</i> au microscope électronique.....	20
Figure 13 : <i>Candida albicans</i> au microscope électronique.....	21
Figure 14 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène. XO : xanthine oxydase ; P-450 : cytochrome P-450.....	23
Figure 15 : Carte géographique de la station d'étude.....	27
Figure 16 : Rendements des extraits bruts exprimés en pourcentage.....	37
Figure 17: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.....	38
Figure 18: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	38
Figure 19: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	39
Figure 20: Capacité antioxydante totale des extraits de <i>C. stricta</i>	40
Figure 21: Photos représentant la coloration de Gram des souches bactériennes testées.....	41
Figure 22 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876.....	42
Figure 23 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	43

Figure 24 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341.....	44
Figure 25 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.....	45
Figure 26 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603.....	46
Figure 27 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	47
Figure 28 : Variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique et étherique sur <i>Bacillus cereus</i>	49
Figure 29 : Zones d'inhibitions des extraits méthanolique et étherique pour <i>Bacillus cereus</i>	50
Figure 30 : Variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique et étherique sur <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Figure 31 : Zones d'inhibitions des extraits méthanolique et étherique pour <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Figure 32 : Variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique et étherique sur <i>Candida albicans</i>	53
Figure 33 : Photos des zones d'inhibitions des extraits méthanolique et étherique pour <i>Candida albicans</i>	54

Liste des photos

Photo 1 : Thalles secs de <i>Cystoseira stricta</i>	26
Photo 2 : Evaporateur rotatif de type HAHNVAPOR HS-2005V-N.....	28

Table des matières

Remerciements.....	I
Résumés.....	II
Liste des abréviations.....	III
Liste des tableaux.....	IV
Liste des figures.....	V
Liste des photos.....	VI

Introduction générale.....	1
-----------------------------------	----------

Partie bibliographique

Chapitre I: Présentation de l'algue étudiée

1- Généralités sur les algues.....	5
1.1- Définition.....	5
1.2- Structure des algues.....	5
1.2.1- Les macroalgues.....	5
1.2.2- Les microalgues.....	6
1.3- Composition des algues.....	6
1.4- Conditions de vie.....	7
1.5- Grands groupes des algues.....	7
1.6- Famille des Sargassacées.....	8
1.7- Genre <i>Cystoseira</i>	9
2- <i>Cystoseira stricta</i>	9
2.1- Description botanique.....	9
2.2- Habitat.....	10
2.3- Position systématique.....	11
2.4- Reproduction.....	11
2.5- Travaux antérieurs.....	12

Chapitre II: Généralités sur les microorganismes

1- Définition des microorganismes.....	14
2- Notion de pouvoir pathogène.....	14
3- Quelques espèces bactériennes.....	15
3.1- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15

3.2- <i>Escherichia coli</i>	16
3.3- <i>Staphylococcus aureus</i>	17
3.4- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	18
3.5- <i>Bacillus cereus</i>	19
3.6- <i>Micrococcus luteus</i>	20
3.7- <i>Candida albicans</i>	21

Chapitre III : Radicaux libres et les antioxydants

1- Introduction.....	22
2- Radicaux libres.....	22
3- Origine des ERO.....	22
4- Action biologique des radicaux libres.....	23
5- Défenses contre les radicaux libres.....	23

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel végétal

1- Choix du matériel végétal.....	26
2- Station d'étude.....	26
3- Récolte et conservation des échantillons.....	27

Chapitre II : Préparation des extraits et dosages phytochimiques

1- Préparation des extraits bruts.....	28
2- Dosage des composés phénoliques.....	29
2.1- Dosage des phénols totaux.....	29
2.2- Dosage des flavonoïdes.....	29
2.3- Dosage des tanins condensés.....	29

Chapitre III : Etude du pouvoirs antimicrobien et antioxydant

1- Etude du pouvoir antimicrobien.....	31
1.1- Souches testées.....	31
1.2- Confirmation des souches.....	31
1.2.1- Test de la catalase.....	31
1.2.2- Coloration de Gram.....	32
1.3- Conservation des souches.....	32
1.4- Milieux de culture utilisés.....	32
1.5- Antibiogramme.....	32
1.5.1- Préparation de l'inoculum.....	33
1.5.2- Ensemencement.....	33

1.5.3- Application des disques d'antibiogramme.....	34
1.5.4- Incubation.....	34
1.5.5- Lecture.....	34
1.6- Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	34
1.6.1- Préparation de l'extrait.....	34
1.6.2- Méthode de diffusion sur agar (méthode des disques).....	35
2- Etudes du pouvoir antioxydant.....	35
2.1- Capacité antioxydante totale (CAT).....	35

Résultats et discussions

Chapitre I : Dosages des composés phénoliques et activité antioxydante

1- Rendement des extraits.....	37
2- Teneurs en phénols totaux.....	38
3- Capacité antioxydante totale (CAT).....	40

Chapitre II : Activité antimicrobienne

1- Résultats de la coloration de Gram.....	41
2- Résultats du test catalase.....	42
3- Résultats de l'antibiogramme.....	42
3.1- <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876.....	42
3.2- <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	43
3.3- <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341.....	44
3.4- <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.....	45
3.5- <i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603.....	46
3.6- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	47
3.7- <i>Candida albicans</i> ATCC 26790.....	48
4- Résultats de la méthode de disques.....	48
➤ Effet inhibiteur sur <i>Bacillus cereus</i>	49
➤ Effet inhibiteur sur <i>Staphylococcus aureus</i>	51
➤ Effet inhibiteur sur <i>Candida albicans</i>	53

Conclusion générale.....	52
---------------------------------	-----------

Références bibliographiques.....	57
---	-----------

Annexes.....	67
---------------------	-----------

Introduction générale

La terre est la planète bleue où l'eau recouvre plus de 70% de sa surface. Elle abrite des organismes marins riches en composés bioactifs à divers activités biologiques présentant une énorme ressource de nouveaux composés (**Yong-Xin et al., 2011**).

L'étude des produits d'origine marine a débuté à la fin des années 1970 et a conduit à l'isolement d'environ 21855 substances. Beaucoup d'extraits isolés présentent une potentialité pharmacologique, bien supérieure à celle de produits naturels provenant de plantes ou d'organismes terrestres (**Blunt et al., 2012**).

Parmi les organismes marins, les algues sont sources riches en composés bioactifs. Récemment, les chercheurs ont indiqué que les composés extraits d'algues marines montrent diverses activités biologiques à savoir : des activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (**Balboa et al., 2013**).

Bien que des algues soient exposées aux conditions environnementales défavorables telles que les rayons ultraviolets et les concentrations élevées en oxygène qui mènent à la formation des radicaux libres, et à d'autres oxydants forts, ils n'ont aucun dommage sérieux. Ainsi, l'algue produit des métabolites secondaires à caractères antioxydants tels que les caroténoïdes, fucoxanthine, phlorotanins et tocophérols (**Widjaja-Adhi et al., 2010**).

La résistance croissante des bactéries envers les antibiotiques existants est un problème majeur dans le monde entier. Une des manières d'empêcher cette résistance est l'élaboration des nouveaux composés qui ne sont pas basés sur les agents antimicrobiens synthétiques existants. Ainsi, la recherche des nouvelles sources naturelles des écosystèmes marins a pu mener à l'isolement de nouveaux antibiotiques d'origine algale tels : acide acrylique, composés aliphatiques halogénés, terpènes, composés hétérocycliques sulfurés et inhibiteurs phénoliques (**Chiheb et al., 2009**).

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier la variabilité saisonnière de l'activité antimicrobienne et évaluer l'activité antioxydante de l'algue brune *Cystoseira stricta* qui est récoltée du mois de mars 2013 au mois de février 2014.

Notre travail a été divisé en trois parties :

La première partie concernant l'étude bibliographique, comprend :

- ✓ l'étude botanique de l'espèce *Cystoseira stricta* en premier chapitre ;
- ✓ les généralités sur les microorganismes dans un second ;
- ✓ les radicaux libres et les antioxydants en troisième chapitre.

La deuxième partie reporte la description du protocole expérimental à savoir :

- ✓ Les dosages des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés ;
- ✓ La quantification de la capacité antioxydante totale (CAT) des extraits bruts méthanolique et étherique ;
- ✓ L'évaluation de la variété saisonnière de l'activité antimicrobienne des deux extraits cités sur sept souches : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et la levure *Candida albicans*.

La troisième partie portera sur l'interprétation des résultats obtenus et leur discussion.

Partie bibliographique

Chapitre I : Présentation de l'algue étudiée

1- Généralités sur les algues

1.1- Définition

Les algues, organismes photosynthétiques, sont conventionnellement définies comme des végétaux peuplant le milieu aquatique, les lieux humides et de nombreux milieux terrestres. Elles sont dépourvues de tige, de racine, de feuille ou de fleur, leur appareil végétatif relativement simple est appelé « thalle » (Guillaume, 2010). Elles peuvent être libres ou fixés sur un support, leur taille varie de moins d'un micromètre tel l'algue *Prochlorococcus* (0.5 μm) à plusieurs dizaines de mètres pour les *Macrocystis* (60 mètres) (Leclerc, 2010).

Il est difficile de déterminer le vrai nombre d'espèces vu leur diversité inconnue et leur recensement et classification. Dernièrement, le nombre d'espèces recensées est de 136 207 (Guiry, 2014).

1.2- Structure des algues

1.2.1- Les macroalgues

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

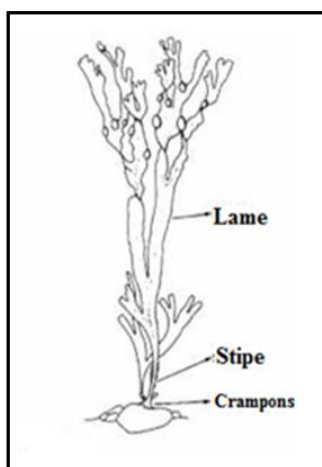


Figure 1 : Représentation schématique d'une macro-algue brune de type fucale (Person, 2011).

1.2.2- Les microalgues

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

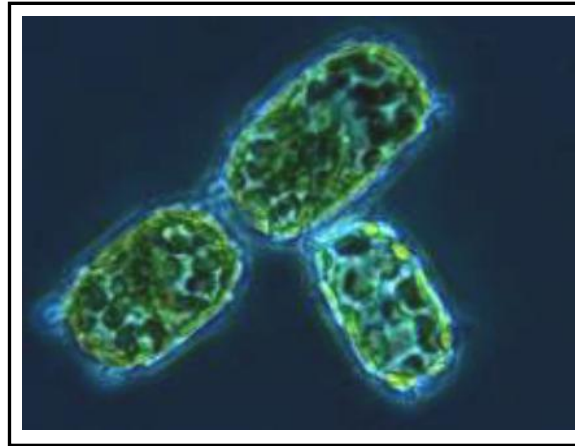


Figure 2 : Micro-algues (Person, 2011).

1.3- Composition des algues

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

- **Fibres** : de 33 à 61% (**Lahaye, 1991**).
- **Calcium** : les algues sont une source abondante de ce minéral qui peut être jusqu'à 34% de la matière sèche (**Frestedt et al., 2008**).
- **Vitamines** : surtout la vitamine B12 à des teneurs assez importantes contrairement aux plantes terrestres (**Watanabe et al., 1999**).
- **Iode** : la teneur en iode des algues brunes est exceptionnelle et peut atteindre jusqu'à 14296 mg/kg de matière sèche (**Maro et al., 1999**).
- **Protéines** : Les phycobiliprotéines sont les principaux pigments des algues rouges (phycoérythrine) et bleues (phycocyanine), possèdent des propriétés antioxydantes utilisées dans les traitements de certains cancers et maladies inflammatoires liées au stress oxydatif (**González et al., 1999 ; Pádula et Boiteux, 1999 ; Ramirez et al., 1999**).
- **Polyphénols** : appelés phlorotannins chez les algues, ils sont présents surtout dans les phéophycées et montrent une activité antioxydante dans les tests *in vitro* (**Shibata et al., 2008**).

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

1.4- Conditions de vie

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

1.5- Grands groupes des algues

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

Les Chlorophycées (algues vertes) : qui jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux. Elles sont de formes très variées, uni- ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, aux quelles sont associés aux carotènes et xanthophylles. La photosynthèse permet la formation d'amidon, comme pour les plantes supérieures. La plupart des algues vertes vivent en eau douce ou en milieux marins, mais certaines espèces peuvent également se développer sur terre (**Pérez, 1997**).

Les Rhodophycées (algues rouges) : l'association de la phycoérythrine à d'autres pigments chlorophylliens est à l'origine de la coloration rosâtre des plastes de ces algues. Les Rhodophycées sont des organismes pluricellulaires d'origine marine divisés en deux grands groupes, en fonction de leur cycle de reproduction : les Bangiophycées et les Floridéophycées (**Guillaume, 2010**).

Les Phéophycées (algues brunes) : de structure généralement pluricellulaire et de dimensions très variables, la majorité de ces algues vivent en milieu marin et présentent une couleur brunâtre résultant de l'association de pigments dominants, à savoir la xanthophylle et la fucoxanthine (**Guillaume, 2010**).

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

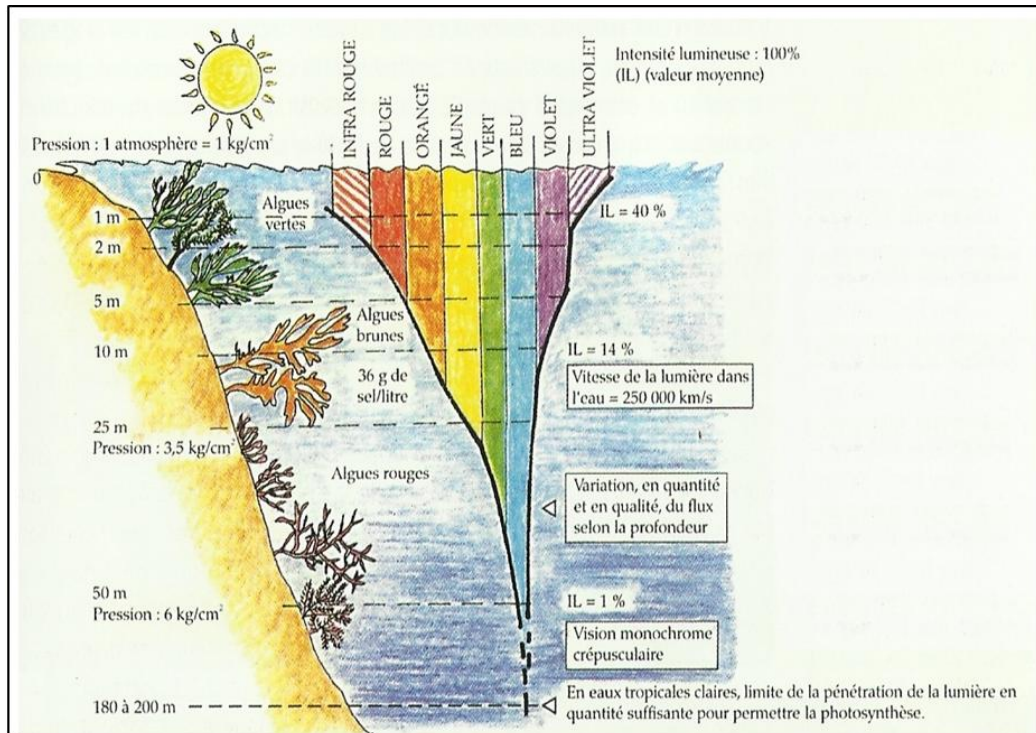


Figure 3 : Distribution des algues selon l'intensité lumineuse (Leclerc, 2010).

1.6- Famille des Sargassacées

Au sein des Phéophycées, la famille des Sargassacées appartient à l'ordre des Fucales ; elle a été proposée pour la première fois par Kylin en 1917 (Rousseau et De Reviere, 1999). Renfermant 26 genres et 488 espèces, elle représente 92% des espèces connues de l'ordre des fucales (Le Lann, 2009).

De récents remaniements taxonomiques ont conduit Rousseau et De Reviere (1999) à inclure le groupe des Cystoseiracées dans la famille des Sargassacées. Ce remaniement a ensuite été validé par d'autres études moléculaires qui ont montré que les Sargassacées et les Cystoseiracées présentent des morphologies similaires (Cho *et al.*, 2006 ; Phillips *et al.*, 2008).

1.7- Genre *Cystoseira*

Le genre *Cystoseira* comprend 51 espèces (**Robvieux, 2013**). Ce sont des algues brunes constituées par un axe principal qui est attaché au rocher par un disque basal et duquel ils partent de nombreux rameaux primaires et secondaires (**Coll et al., 2010**).

Les espèces de ce genre sont buissonnantes, arborescentes, très ramifiées, très touffues, souvent de grande taille (30 cm à 1 m ou 2 m) d'un aspect particulier et facilement reconnaissable, mais l'attribution de l'espèce est particulièrement difficile (**Berman, 2003**).

Les thalles des *Cystoseira* se composent de 3 parties :

- Un disque basal: plus au moins trapu peut donner naissance soit à une seule tige lisse soit à plusieurs (plante cespiteuse). Il est fixé sur les fonds stables généralement rocheux.
- Une tige : partie du thalle comprise entre le disque basal et les rameaux primaires, généralement, elle est cylindrique, la tige persiste durant toute la vie des *Cystoseira*, elle est dite pérennante.
- Des rameaux primaires : ils croisent au sommet de la tige et se présentent comme de petites proliférations sur le bord ou un peu en dessus du sommet de la tige (**Ainane, 2011**).

2- *Cystoseira stricta*

2.1- Description botanique

Cystoseira stricta de par son abondance et ses dimensions représente sans aucun doute, l'espèce la plus importante le long de la mer méditerranée. C'est une hémiphanérophycée c'est-à-dire une algue pérennante dont une partie de la fronde dressée se détruit tous les ans : les parties distales sont caduques alors que les axes constituent la portion vivace (**Pellegrini, 1971**).

Le thalle est cespiteux dont plusieurs troncs longs atteignant jusqu'à 40 cm s'élèvent d'une base rampante irrégulière. Ces troncs donnent naissance vers leur sommet à des rameaux primaires cylindriques épineux et longs jusqu'à 30 cm. Les rameaux secondaires sont régulièrement répartis le long des rameaux primaires (**Figures 4 et 5**). Les vésicules aérifères sont rares. Les réceptacles sont situés à l'extrémité des rameaux de dernier ordre, ils sont constitués par le rapprochement d'un certain nombre d'épines plus ou moins coalescentes entre elles et avec l'axe du rameaux. Les rameaux primaires sont caduques et tombent en automne (**Cabioc'h et al., 2006 ; Susini et al., 2007**).



Figure 4 : Photo de *Cystoseira stricta* (doris.ffesm.fr).

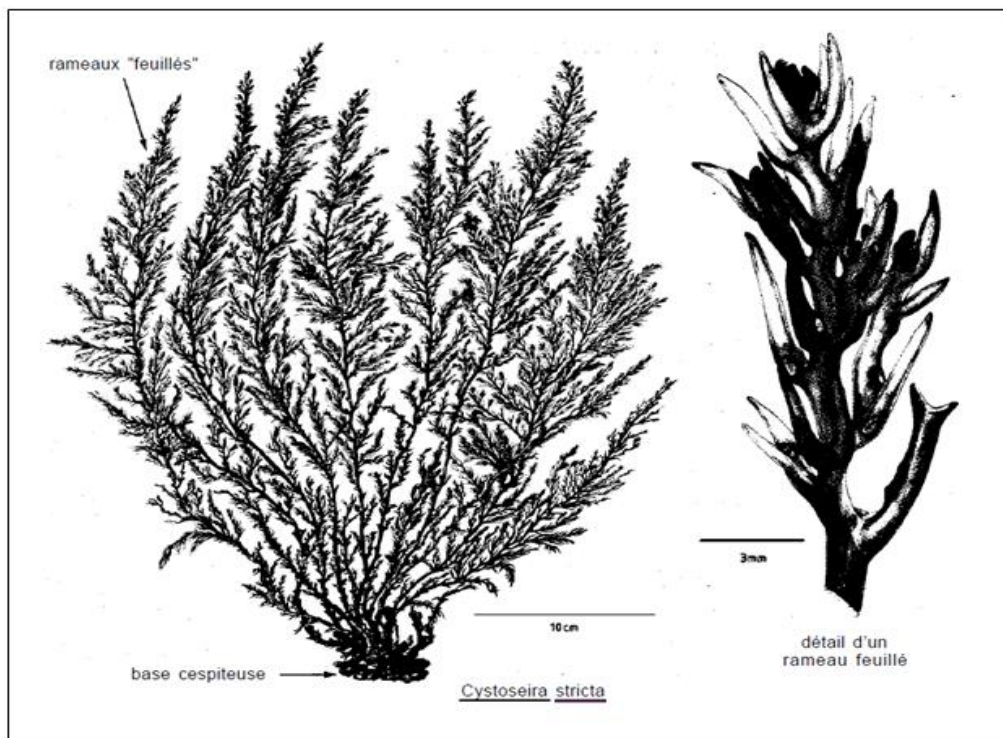


Figure 5 : Morphologie de *Cystoseira stricta* (Fischer, 1987).

2.2- Habitat

Cette algue a besoin d'un substrat dur et rocheux, elle se développe dans les zones bien éclairées soumises à un fort hydrodynamisme marquant la limite supérieure de l'étage infralittoral (0 – 1m de profondeur), elle peut former localement une ceinture dense et continue (Sauvageau, 1912).

Cette espèce est très abondante dans la mer méditerranée, on la trouve pratiquement sur toute les côtes rocheuses sud européennes et nord africaines à savoir : Espagne, Baléares, France, Corse, Italie, Sardaigne, Adriatique, Grèce, Algérie, Tunisie, Maroc, Malte, Lybie et Turquie (**Robvieux, 2013**).

Cystoseira stricta ne pousse que dans les eaux de bonne qualité pour cela elle est considérée comme indice de pollution (**Ballesteros et al., 2007**).

2.3- Position systématique

L'espèce *Cystoseira stricta* est classée d'après **Ainane (2011)** et **Robvieux (2013)** comme suit :

Embranchement : Phéphytophytes

Classe : Phéophycées

S/classe : Fucophycidées

Ordre : Fucales

Famille : Sargassacées

Genre : *Cystoseira*

Espèce : *Cystoseira stricta*

2.4- Reproduction

La reproduction chez cette espèce est sexuée, elle est une algue pluriannuelle monoïque produisant des spermes et de grandes oosphères immobiles dans de petites cryptes pilifères fertiles (conceptacles). A maturité, les spermatozoïdes puis les oosphères passent à l'extérieur par l'ouverture du conceptacle (ostiole) et la fécondation a lieu dans l'eau après des heures de la libération des gamètes (**Guern, 1962**). Les zygotes sont grands et ne flottent pas, ils descendent rapidement et sécrètent un mur de polymères adhésifs après 12 heures de post fertilisation (**Clayton, 1990**).

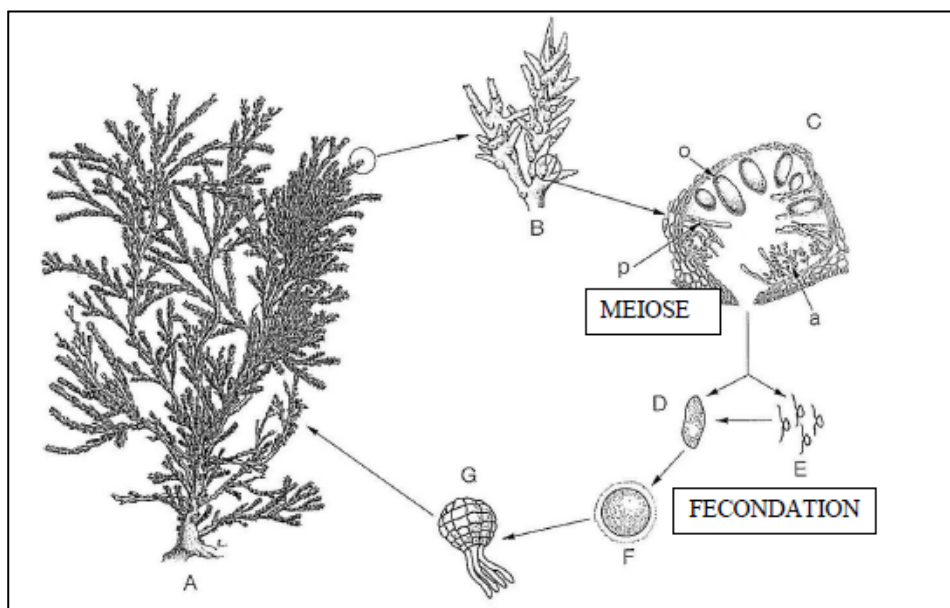


Figure 6 : Schéma du cycle de vie des espèces du genre *Cystoseira*. A : individu mature, B : extrémité d'une ramification avec des conceptacles, C : conceptacle en coupe transversale, D : gamète femelle, E : gamète mâle, F : zygote et G : zygote avec rhizoïdes (**Garreta et al., 2001**).

2.5- Travaux antérieurs

D'après le **tableau 1**, une étude biochimique de *C. stricta* faite par **Pellegrini (1971)** a déterminé plusieurs composés à différentes teneurs en fonction du mois de la récolte de l'algue durant l'année.

Tableau 1 : Teneurs maximales et minimales des composés en fonction du mois de l'année

Composés	Teneur en (%) par rapport au poids sec	Mois où la teneur est maximale	Mois où la teneur est minimale
Cendres totales	18.4 - 32.6	Aout	Janvier
Mannitol	9.78 - 16.1	Mai	Octobre
Acide alginique	26.1 - 37.6	Octobre	Mai
Cellulose	3.2 - 6.1	Juillet	Septembre
Azote totale soluble	0.84 - 2.5	Février	Septembre

D'autres études complémentaires ont permis d'isoler et d'identifier d'autres métabolites dans cette espèce et qui sont résumés dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Travaux antérieurs sur l'algue *Cystoseira stricta*

Molécules isolées	Auteurs
Un couple Quinone – Hydroquinone : (2'E,6'E)-2-(10',11'-Dihydroxygéranylgéranyl)-6-méthylquinoline et (2'E,6'E)-2-(10',11'-Dihydroxygéranylgéranyl)-6-méthyl-1,4-benzoquinone	(Amico <i>et al.</i> , 1982)
Trois nouveaux métabolites appartenant à la classe des 0-Méthyltoluquinols : isocystokétal, isostrictalcétal, isobalearone.	(Amigo <i>et al.</i> , 1987 a)
Quatre tétraprényltoluquinols.	(Amigo <i>et al.</i> , 1987 b)
Deux méroditerpènes de formule C ₂₇ H ₃₄ O ₄ et C ₂₇ H ₃₆ O ₄ .	(Valls <i>et al.</i> , 1996)
Méroditerpènes : 4'-méthoxy-(2E)-bifurcarénone et 2,12-diepineobalearone.	(Mesguiche <i>et al.</i> , 1997)
Stérols : fucostérol, 24-méthylènecholestérol, cholestérol, desmostérol, et β-sitostérol.	(Iatrides <i>et al.</i> , 1983)

D'après une étude faite par **Ruberto *et al.* (2001)** sur des espèces du genre *Cystoseira* collectées dans les côtes méditerranées, *C. stricta* possède la plus grande activité antioxydante avec 0.83 d'indice d'efficacité anti-radicalaire (EAR). Ce pouvoir est dû aux cystokétal et strictakétal, de type tétraprényltoluquinols.

Nous notons que cette espèce représente un bon bioabsorbant de métaux lourds surtout lorsqu'elle est traitée par une solution basique (**Iddou *et al.*, 2011**).

Chapitre II : Généralités sur les microorganismes

1- Définition des microorganismes

Le terme microorganismes regroupe de façon assez impropre une grande diversité d'être vivants généralement unicellulaires. On distingue les procaryotes (Bactéries et Archaea) dont les cellules ne possèdent pas de noyau et les eucaryotes (Champignons, Levures et Protozoaires) qui possèdent un noyau. Les virus sont généralement considérés comme faisant partie des microorganismes mais leur incapacité à se reproduire en l'absence de cellules hôtes les range à part dans la taxonomie du vivant (**Parazols, 2007**).

Les microorganismes revêtent une importance capitale dans les domaines comme :

1) l'industrie alimentaire : nombreux produits de consommation élaborés grâce aux microorganismes. C'est le cas des yaourts, des fromages et autres produits laitiers ;

2) l'énergie : gaz naturel exclusivement produit par l'activité des germes. Ils interviennent surtout dans les processus de décontamination des sites pollués par les hydrocarbures ;

3) l'agriculture : rôle clé des microorganismes dans les transformations de la matière organique. Les différentes activités des groupes de microorganismes du sol assurent la mise à disposition de composés minéraux facilement assimilables par la plante et nécessaires pour son développement. Au nombre de ces microorganismes on peut citer les cellulolytiques, les ammonifiants, les nitrifiants, les amylolytiques, les bactéries fixatrices d'azote, etc (**Asimi, 2009**).

2- Notion de pouvoir pathogène

Une bactérie pathogène est une bactérie capable de provoquer une infection chez un sujet sain après pénétration dans l'organisme vivant et modification de structure cellulaire d'un ou plusieurs tissus. On parle alors de maladie bactérienne infectieuse (**Nicklin, 2000**).

Les bactéries sont classées selon le pouvoir pathogène en :

Bactéries pathogènes :

Ce sont les bactéries qui possèdent des caractéristiques spécifiques leur permettant de déclencher une infection. Ces caractéristiques représentent les facteurs de virulence : les toxines, les hémolysines et les systèmes chélateurs de fer. La mobilité, l'adhésion et le chimiotactisme bactérien sont aussi considérés comme des critères renforçant la virulence chez une bactérie pathogène (**Chouder, 2006**).

Le pouvoir pathogène dépend de l'espèce bactérienne en cause, ainsi pour un même pouvoir pathogène, il peut y avoir des souches plus ou moins virulentes. Exemple : *Shigella dysenteriae* et *Shigella flexneri* sont toutes les deux responsables d'une dysenterie bacillaire, mais pas avec les mêmes doses. Quelques bactéries suffisent pour développer une infection avec *S. dysenteriae* alors que plusieurs milliers sont nécessaires avec *S. flexneri*. Cette espèce est donc considérée comme moins virulente que *S. dysenteriae*. (**Pelmont, 1995**).

Bactéries opportunistes :

Les bactéries opportunistes ne donnent habituellement pas de maladie chez les sujets sains. En revanche, elles peuvent devenir pathogènes chez les sujets aux défenses immunitaires altérées. Se sont souvent des bactéries commensales qui vivent à la surface de la peau et des muqueuses de l'homme, et des animaux, suite à une antibiothérapie ou immunodépression elles vont proliférer (**Chouder, 2006**).

3- Quelques espèces bactériennes

3.1- *Pseudomonas aeruginosa*

C'est un bacille pyocyanique (bacille du pus bleu) fréquemment isolé en bactériologie médicale. Il est commensal du tube digestif mais peu abondant chez le sujet sain, il occasionne de nombreuses infections chez les sujets fragilisés. Il produit deux pigments qui diffusent dans le milieu de culture : la pyocyanine (bleu vert) soluble dans le chloroforme et la pyoverdine (jaune vert) fluorescent et soluble dans l'eau. Il existe de rares souches produisant d'autres pigments (noir ou rouge) mais surtout 10% de souches sont non pigmentées. La production de pigments est favorisée sur les milieux de King "A" pour la pyocyanine et "B" pour la pyoverdine (**Chouder, 2006**).

❖ Caractères bactériologiques

C'est un bacille Gram négatif, aérobie strict, mobile à ciliature polaire monotriche possédant les caractères biochimiques suivants d'après **Delarras (2010)** :

- Caractère en commun : Oxydase +.
- D'autres caractères sont utiles pour le diagnostic d'espèce : Indole -, urée -, TDA - (tryptophane-désaminase), H₂S -, gélatine +, Nitrate-réductase +,

ONPG - (orthonitrophényl-galactose), , LDC - (Lysine-décarboxylase), ODC - (Ornithine-décarboxylase), ADH + (Arginine-déshydrogénase).

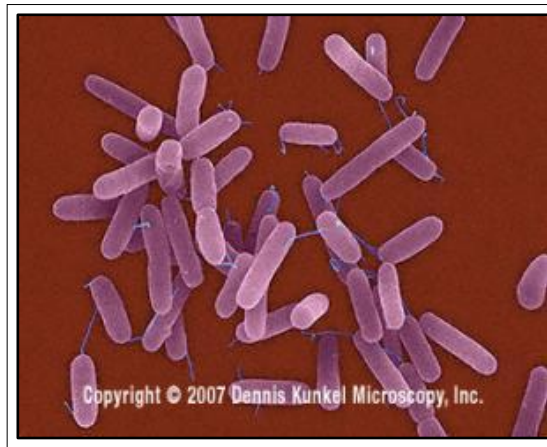


Figure 7 : *Pseudomonas aeruginosa* au microscope électronique (<http://education.denniskunkel.com>).

3.2- *Escherichia coli*

C'est un bacille Gram négatif, anaérobie facultatif possédant des cils péritriches et flagelles. C'est une bactérie commensale du tube digestif des animaux et de l'homme. La seule présence des populations d'*E. coli* dans l'intestin crée une compétition pour le territoire et les ressources alimentaires, limitant ainsi les invasions par d'autres espèces bactériennes (Blanc *et al.*, 2006).

E. coli est largement utilisées en génie génétique pour l'obtention de l'insuline glargine analogue de l'insuline humaine (Scheen, 2004).

❖ Caractères bactériologiques

Ce sont des bacilles à 70% mobiles, non sporulés, de 2,5 µm de long et 0,6 µm de large. Elles présentent les caractères mentionnés dans le tableau suivant d'après Nicklin (2000) :

Tableau 3 : Caractères biochimiques d'*Escherichia coli*

Caractères d'identification	
➤ Glucose + (production de gaz)	➤ ONPG +
➤ H ₂ S –	➤ Citrate de Simons –
➤ Lactose +	➤ VP -
➤ Manitol +	➤ Uréase –
➤ Sorbitol +	➤ TDA –
➤ β-galactosidase +	➤ Indole +

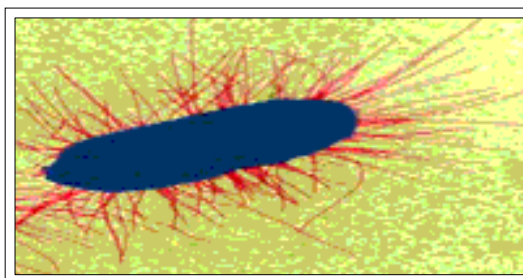


Figure 8 : *Escherichia coli* au microscope électronique (Photo prise par Kaiser le 23 septembre, 1998).

3.3- *Staphylococcus aureus*

S. aureus étant un organisme vivant procaryote et une bactérie à Gram positif, il se retrouve donc dans le règne bacteria puis dans le phylum firmicutes. Sa taxonomie complète le positionne dans la classe des Bacilli puis dans l'ordre des Bacilliales et à la famille des Staphylococcacées. Cette famille comporte les genres *Gemella*, *Jeotgalicoccus*, *Salinicoccus*, *Macrococcus*, ainsi que le plus important le genre *Staphylococcus* où il y a l'espèce *S. aureus* (Robert, 2013).

❖ Caractères bactériologiques

On retrouve les staphylocoques en amas irréguliers de bactéries ou regroupés par deux (diplocoques) ou par quatre (tétraèdres). Ces petits amas forment souvent des grappes et c'est grâce à l'examen direct que la bactérie a été nommée par Ogston (1884) (Robert, 2013).

En effet, son nom dérive du grec « staphyle » qui signifie tout simplement grappe de raisin. Les staphylocoques ont été observés par Robert Koch (1878) puis reconnus par Louis Pasteur (1880) et après une coloration de Gram, ils se révèlent être des cocci Gram positif, d'environ 0,5 à 1 μm de diamètre. Ils sont immobiles et non sporulés. La majorité des *S. aureus* sont capsulés mais ils peuvent perdre leur capsule après culture.

Cette bactérie est catalase +, oxydase -, glucose + (sans dégagement de gaz), coagulase + et Mannitol + (Callon, 2008).

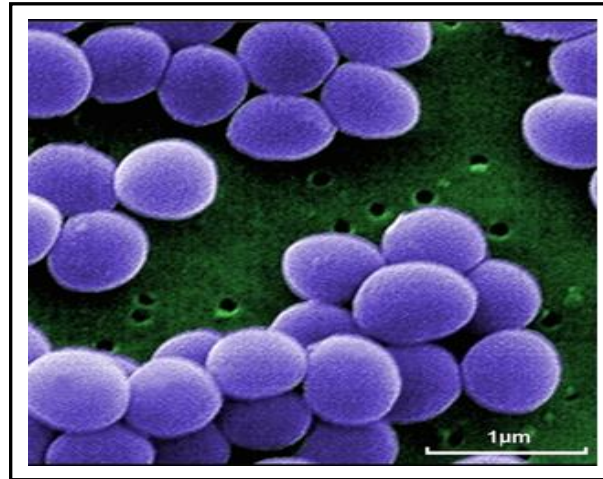


Figure 9 : *Staphylococcus aureus* au microscope électronique
(<http://www.bacteriainphotos.com>).

3.4- *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae est une bactérie appartenant à la famille des Enterobacteriacées, elle représente l'espèce type du genre *Klebsiella*. Elle fait partie de la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux en faible quantité (**Raud, 2003**).

❖ Caractères bactériologiques

C'est un bacille Gram – de 1 à 4 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large, immobile généralement entouré de capsule polysaccharidique donnant un aspect muqueux typique du genre. C'est une bactérie aéro-anaérobie facultative qui présente les caractères biochimiques représentés dans le tableau 3 (**Raud, 2003**).

Tableau 4 : Caractères biochimiques de *Klebsiella pneumoniae*

Caractères d'identification	
➤ Oxydase –	➤ VP +
➤ Catalase +	➤ Tryptophane désaminase –
➤ Nitrate réductase +	➤ Arginine dihydrolase –
➤ Glucose +	➤ Ornithine décarboxylase –
➤ β-galactosidase +	➤ Production H ₂ S -

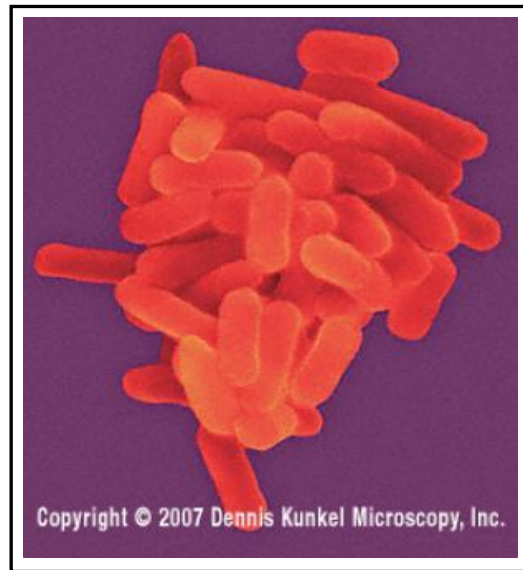


Figure 10 : *Klebsiella pneumoniae* au microscope électronique (<http://education.denniskunkel.com>).

3.5- *Bacillus cereus*

B. cereus est une bactérie Gram positive mobile, aéro-anaérobie facultative dont la cellule végétative mesure 3 à 5 μm de long pour un diamètre de 1 à 2 μm . Elle peut se développer à des pH variant de 4,3 à 9,3. Sa tolérance au sel est relativement élevée puisqu'elle peut croître à des teneurs en NaCl atteignant 18%. Elle fait partie des pathogènes puisqu'elle produit deux toxines pouvant être à l'origine de toxi-infections alimentaires collectives. Les spores de *B. cereus*, bien que de résistance moyenne, sont capables de survivre aux températures utilisées lors de pasteurisations basses (**Guillard, 2003**).

Cette bactérie est catalase +, VP +, citrate +, nitrate +, gélatine + (**Archambaud, 2007**).

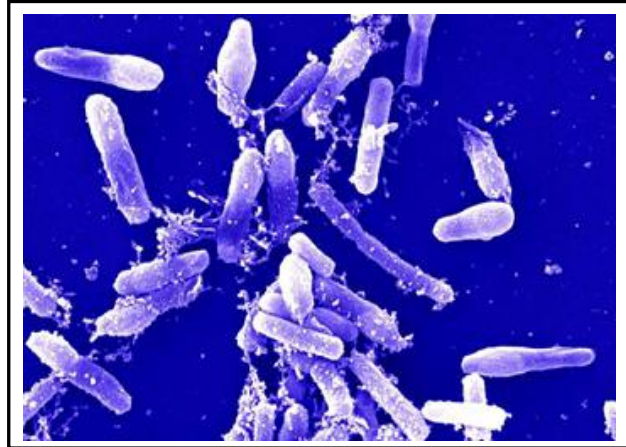


Figure 11 : *Bacillus cereus* au microscope électronique
(<https://microbewiki.kenyon.edu>).

3.6- *Micrococcus luteus*

Cette bactérie est de forme sphérique, [saprophyte](#) faisant partie de la famille des [Micrococcacées](#). Elle est [aérobie](#) stricte, [Gram +](#), mannitol +, catalase +. Elle vit dans le sol, les poussières, l'eau et l'air et fait partie de la flore naturelle de la peau des mammifères. Elle peut aussi coloniser la [bouche](#), la [muqueuse](#) de l'[oropharynx](#) et les [voies respiratoires supérieures](#) humaines (Euzéby, 2010).



Figure 12 : *Micrococcus luteus* au microscope électronique
(<http://www.agefotostock.com>).

3.7- *Candida albicans*

Au niveau morphologique, cette levure peut mesurer de 3 à 15 μm , et est caractérisée par un polymorphisme qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire. En effet, certains paramètres tels que le pH, la température ou encore la richesse du milieu de culture influencent l'aspect morphologique que peut prendre *Candida albicans* (Lagane, 2007). Ainsi, trois aspects morphologiques peuvent être rencontrés :

- La forme blastospore, ronde ou ovale, mesurant de 2 à 4 μm avec parfois un bourgeon de formation (Sudbery *et al.*, 2004) ;
- La forme pseudomycélium, mesurant de 500 à 600 μm de longueur et de 3 à 5 μm de largeur, composée d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien. Chaque compartiment cellulaire est identique en longueur, contient la même quantité de matériel génétique, mais diffère du précédent en quantité de cytoplasme et de ces constituants (Sudbery *et al.*, 2004) ;
- La forme mycélium vrai, champignon filamenteux, spécifique de l'espèce *Candida albicans*, où la conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif. Cette forme favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte (Gow, 2002).



Figure 13 : *Candida albicans* au microscope optique
(<http://www.doctorfungus.org>).

Chapitre III : Radicaux libres et les antioxydants

1- Introduction

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies ; mais il peut être aussi une source d'agression pour ces organismes. En effet, des radicaux hautement réactifs dérivés de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons U.V, des radiations ionisantes et de métaux de transition (**Ekoumou, 2003**). Leurs conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines (**Ahamet, 2003**).

2- Radicaux libres

Un radical est une molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur ses orbitales électroniques externes. La présence d'un électron célibataire confère souvent à ces molécules, une grande instabilité et donc une durée de vie très courte (**Lacolley, 2007**).

Parmi les espèces réactives oxygénées (ERO), un ensemble restreint de ces composés jouent un rôle particulier en physiologie à savoir :

Les radicaux primaires : tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}), le radical peroxyde (ROO^{\bullet}) et le radical alkoxyde (RO^{\bullet}).

Les radicaux secondaires : tels que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**).

3- Origine des ERO

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire les bactéries à l'intérieur des cellules immunitaires (macrophages, polynucléaires), d'inactiver les virus ou pour réguler des fonctions cellulaires létales comme l'apoptose (**Favier, 2003**).

-Les sources endogènes des radicaux libres se situent au niveau des chaînes mitochondriales des cellules aérobiques de l'organisme. Les radicaux libres peuvent également être formés au niveau du réticulum endoplasmique, du cytoplasme et de la membrane cytoplasmique. Dans le muscle, les sites de production sont aussi les lysosomes, les peroxysomes, le réticulum nucléaire et sarcoplasmique, le sarcolemme et le sarcoplasme (**Thiebault et Sprumont, 1997**).

-Les sources exogènes sont multiples : l'oxygène et l'oxygène hyperbare, les radiations (UV, rayons gamma) et certains toxiques comme la bléomycine, le benzopyrène et les polluants atmosphériques (**Thiebault et Sprumont, 1997**).

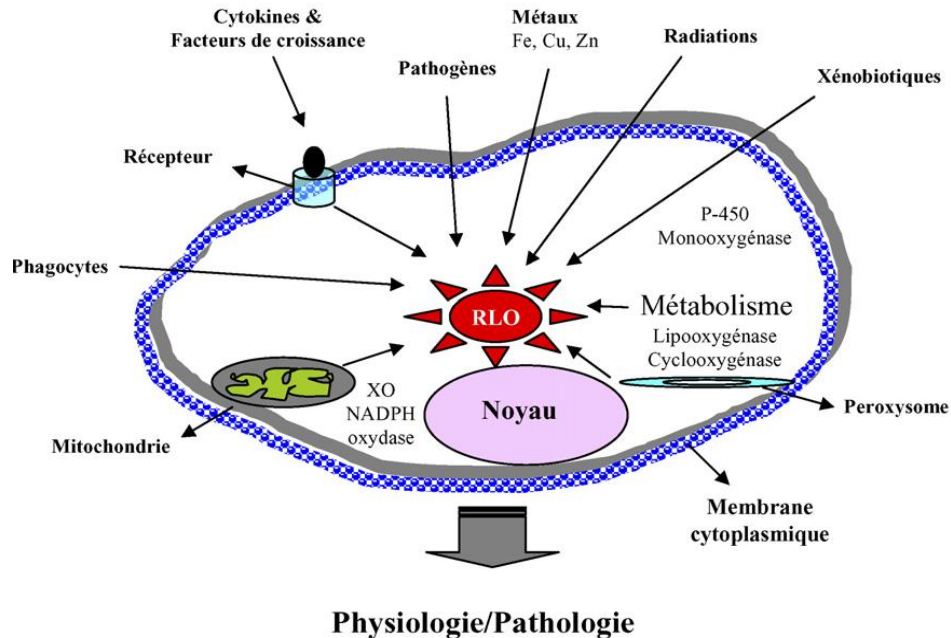


Figure 14 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène.

XO : xanthine oxydase ; P-450 : cytochrome P-450 (**Afonso et al., 2007**).

4- Action biologique des radicaux libres

Les RL réagissent particulièrement sur les macromolécules lipidiques, protéiques, glucidiques et nucléiques. La réaction initiale stimule d'autres réactions, ce qui accroît la production de radicaux libres. Le résultat de ces perturbations est un dysfonctionnement cellulaire menant à des désordres inflammatoires, à des troubles immunologiques, à des problèmes neurologiques, à des mutations génétiques et au vieillissement (**Poortmans et Boisseau, 2003**).

5- Défenses contre les radicaux libres

L'organisme limite la formation et la propagation des radicaux libres par deux mécanismes :

- Des systèmes enzymatiques spécifiques (antioxydants endogènes)
- Des antioxydants d'origine alimentaire ou synthétique (antioxydants exogènes)

➤ **Les antioxydants endogènes :** ce sont des enzymes capables de transformer les radicaux libres en dérivés inoffensifs. La superoxyde dismutase (SOD) transforme l'anion superoxyde en eau oxygénée, ce produit toxique va être ensuite dégradé par la catalase et la glutathion peroxydase (**Poortmans et Boisseau, 2003**).

➤ **Les antioxydants exogènes :**

Ils sont présents dans l'alimentation tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et le sélénium. D'autres sont des dérivés phénoliques d'origine synthétique (butylhydroxyanisole, butylhydroxytoluène, propylgallate) qui agissent comme la vitamine E (**Allane, 2009**).

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel végétal

1- Choix du matériel végétal

La récolte de l'algue *Cystoseira stricta* a eu lieu du mois de mars 2013 au mois de février 2014 dans la plage Madrid à 33 km de la wilaya d'Ain-Témouchent par les doctorantes Benmahdjoub Mariem et Aissaoui Ghania du laboratoire de produits naturels, Département de Biologie, Université de Tlemcen.

Le choix de cette espèce a pour but de valoriser la biomasse algale de la côte ouest algérienne en déterminant ses activités biologiques.



Photo 1 : Thalles secs de *Cystoseira stricta*

2- Station d'étude

Les paramètres géographiques de notre station d'étude sont représentés dans le **tableau 5** et la **figure 15**.

Tableau 5 : Situation géographique et bioclimatique de la station d'étude (**Encarta, 2009**).

Station	Altitude	Longitude (O)	Latitude (N)	Etage bioclimatique
Plage Madrid (Ain-Témouchent)	0 – 1 m	1°28'	35°18'	Littoral

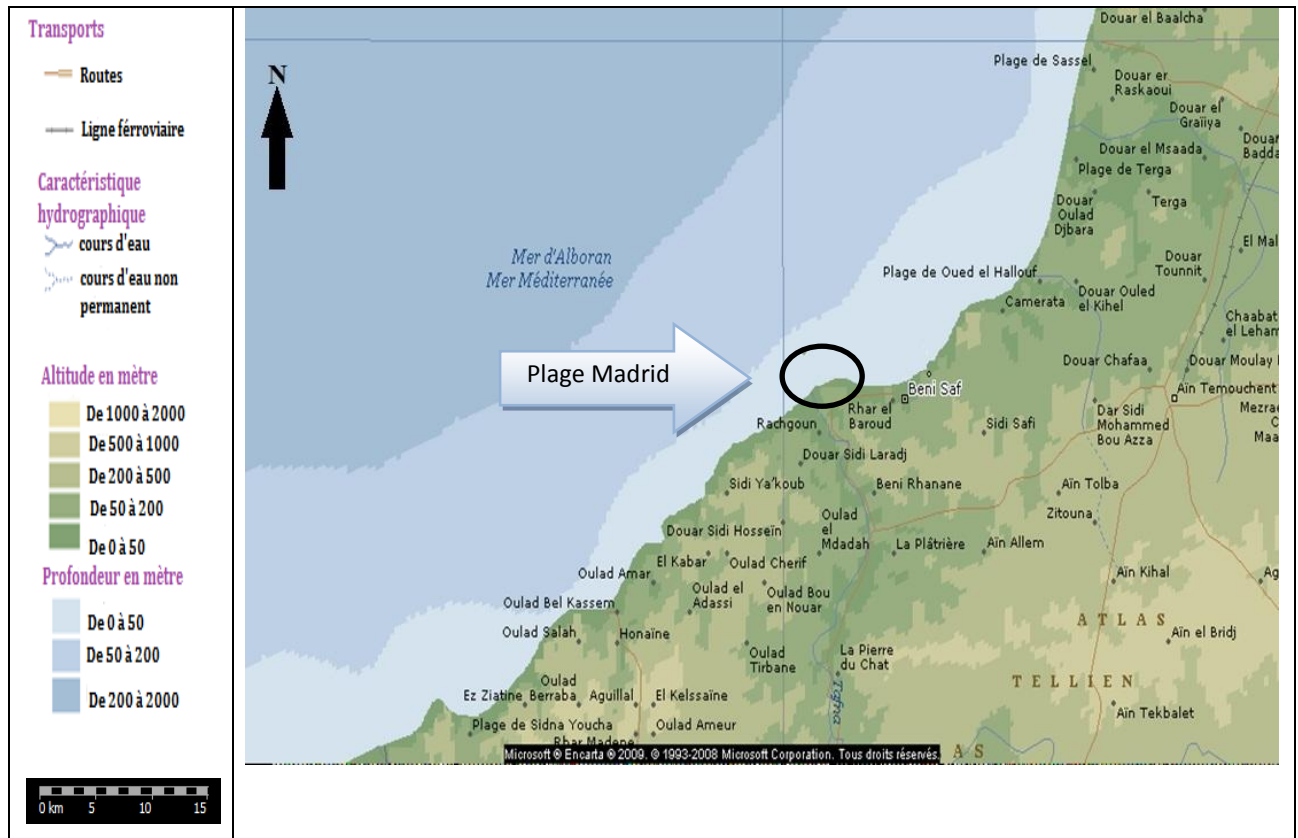


Figure 15 : Carte géographique de la station d'étude (Encarta, 2009).

3- Récolte et conservation des échantillons

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

Au laboratoire, ces échantillons sont à nouveau rincés avec de l'eau de robinet puis avec de l'eau distillée pour les mettre dans une chambre à l'obscurité et à la température ambiante jusqu'à la déshydratation complète. Après le séchage, les spécimens ont été conservés dans des sacs en papier jusqu'à leurs utilisations ultérieures (Gonzalez del Val *et al.*, 2001).

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

Chapitre II : Préparation des extraits et dosages phytochimiques

1- Préparation des extraits bruts

L'extrait est obtenu en ajoutant 1g de la poudre algale à 20 ml du solvant (Méthanol et éther diéthylique). Le mélange (algue/solvant) obtenu est macéré à l'abri de la lumière pendant 48 h à température ambiante, ensuite une filtration sur papier filtre a été réalisée. Le filtrat obtenu est évaporé à sec à 40 °C sous pression réduite avec un évaporateur rotatif de type HAHNVAPOR HS-2005V-N. L'extrait obtenu est récupéré par le méthanol puis conservé à 4°C jusqu'à son utilisation.



Photo 2 : Evaporateur rotatif de type HAHNVAPOR HS-2005V-N

➤ Calcul du rendement d'extraction

Les pourcentages des extraits bruts méthanolique et étherique ont été calculés par la formule suivante:

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

R : Rendement exprimé en %

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

2- Dosage des composés phénoliques

Selon la bibliographie, les extraits bruts utilisés pour le dosage des composés phénoliques sont ceux du mois de mars.

2.1- Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux des extraits méthanolique et étherique de *C. stricta* a été effectué avec le réactif du Folin-Ciocalteu selon la méthode de **Singleton et Rossi (1965)**.

Une quantité de 200 µl de l'extrait brut est introduite dans des tubes à essai, puis 1ml du réactif de Folin- Ciocalteu dilué 10 fois et 0.8 ml de carbonate de sodium à 7.5% sont additionnés. Les tubes sont agités et conservés durant 30 min à la température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECORD 200 Plus.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme de la matière algale sèche (mg EAG/g MS).

2.2- Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée en utilisant la technique de **Zhishen *et al.* (1999)**. Une quantité de 500 µl des extraits méthanolique et étherique convenablement diluée est mélangée avec 1500 µl d'eau distillée, suivi par 150 µl de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5 %. Après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10 % est ajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance est déterminée à 510 nm contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme de la matière algale sèche (mg EC/g MS).

2.3- Dosage des tanins condensés

La quantité des tanins condensés est estimée en utilisant la méthode de vanilline (**Julkunen-Titto, 1985**). Un volume de 50 µl de l'extrait brut est ajouté à 1500 µl de la

solution vanilline/ méthanol (4 %, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min.

L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECORD 200 Plus.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalents de la catéchine par gramme de la matière algale sèche (mg EC/g MS).

Chapitre III : Etude du pouvoirs antimicrobien et antioxydant

1- Etude du pouvoir antimicrobien

1.1- Souches testées

Les microorganismes utilisés dans notre étude sont mentionnés dans le tableau suivant:

Tableau 6 : Souches utilisées dans le test antimicrobien.

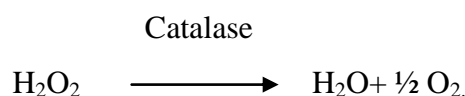
Microorganismes	Gram	Code
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538
<i>Micrococcus luteus</i>		ATCC 9341
<i>Bacillus cereus</i>		ATCC 10876
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853
<i>Escherichia coli</i>		ATCC 8739
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		ATCC 700603
<i>Candida albicans</i>		ATCC 26790

ATCC : American Type Culture Collection.

1.2- Confirmation des souches

1.2.1- Test de la catalase

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



Ce test a pour but de différencier les lactocoque ou leuconostocs (catalase -) des entérocoques (catalase +).

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

L'Observation est immédiate, s'il y'a apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : le test est catalase (+), si il n'y a pas de bulles : catalase (-).

1.2.2- Coloration de Gram

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

- On rejette le violet de gentiane en l'entraînant avec le lugol et on le laisse agir pendant 1 min puis on le rince avec l'eau distillée.

- On rince le frottis à l'alcool pendant 45 secondes.

- On rince avec l'eau distillée

- On recouvre la lame avec la solution de la fushine et on laisse agir pendant 30 secondes. Ensuite on rince avec l'eau distillée.

- Entre deux feuilles de papier filtre fin, on sèche la lame colorée délicatement. On dépose ensuite une goutte d'huile à immersion et on observe au grossissement x 100.

Observation des bactéries : Les bactéries à Gram positif colorées apparaissent en violet foncé et celle à Gram négative colorées en rose.

1.3- Conservation des souches

Elle a été réalisée par ensemencement des souches isolées sur gélose nutritive inclinée en tubes à essais, les cultures pures sont conservées à + 4°C à l'obscurité.

1.4- Milieux de culture utilisés

Les milieux de culture utilisés sont :

- Bouillon BHIB (Fluka)
- Gélose Mueller Hinton pour les bactéries (Fluka).
- Gélose Sabouraud pour la levure (Fluka).

1.5- Antibiogramme

Le but de réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques.

Nous avons utilisé des disques de 6 mm de diamètre imprégnés des antibiotiques à différentes concentrations conditionnés par le fabricant (Institut Pasteur, Alger) par paquets de 50 disques.

Tableau 7 : Liste des antibiotiques et l'antifongique testés sur les bactéries et la levure.

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

1.5.1- Préparation de l'inoculum

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

- ✓ A partir d'une préculture d'environ 20 h sur bouillon BHIB pour les bactéries et 48 h pour la levure, on prépare une suspension bactérienne, la densité optique doit être de 0.08 à 0.1 mesurée à 625 nm pour les bactéries et à 540 nm pour la levure afin d'avoir une concentration de 10^8 UFC/ ml.
- ✓ L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien du milieu stérile s'il est trop chargé.
- ✓ L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

1.5.2- Ensemencement

L'ensemencement se fait par la méthode d'écouvillonnage

- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- ✓ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- ✓ Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- ✓ Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (**Rahal et al., 2011**).

1.5.3- Application des disques d'antibiogramme

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

1.5.4- Incubation

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

1.5.5- Lecture

- ✓ On mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle graduée sur le fond de la boîte ;
- ✓ On compare les résultats aux valeurs critiques ;
- ✓ Selon le diamètre d'inhibition, on classe la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire, ou Résistante.

1.6- Evaluation de l'activité antimicrobienne

La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition et en fonction du diamètre d'inhibition, la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Dans cette technique, il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit à tester (**Broadsky et al., 1976**).

1.6.1- Préparation de l'extrait

Les extraits secs sont récupérés dans le DMSO pour obtenir la concentration de 100 mg/ml pour les deux extraits méthanolique et éthérique.

1.6.2- Méthode de diffusion sur agar (méthode des disques)

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

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

2- Etudes du pouvoir antioxydant

2.1- Capacité antioxydante totale (CAT)

Selon la bibliographie, les extraits utilisés pour réaliser cette étude sont ceux du mois de mars.

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de Prieto *et al.* (1999). Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdate Mo (V) MoO_2^+ en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate /Mo(V) à pH acide .

Un volume de 0.3 ml de chaque extrait est mélangé avec 3 ml de solution de réactif (acide sulfurique 0.6M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes sont visés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide ascorbique comme contrôle positif.

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS). Les expériences sont répétées trois fois.

Résultats et discussions

Chapitre I : Dosages des composés phénoliques et activité antioxydante

1- Rendement des extraits

La **figure 16** illustre les rendements des extraits bruts méthanolique et éthérique de *C. stricta* durant une année.

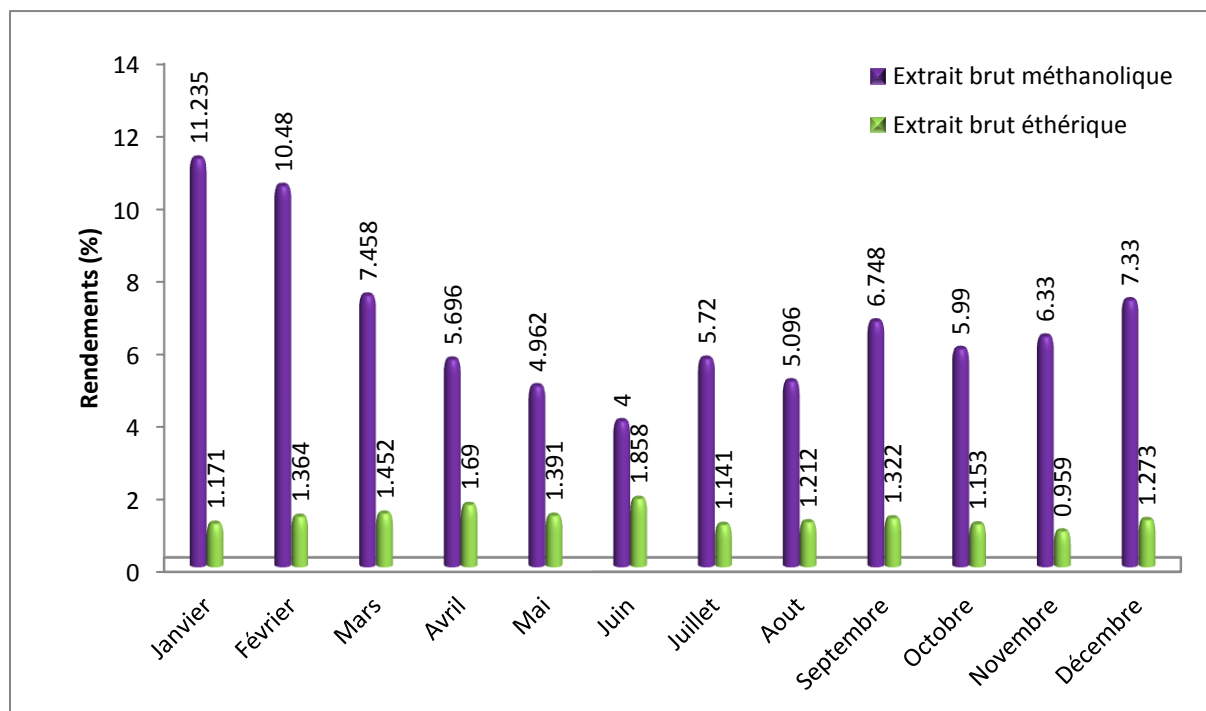


Figure 16 : Rendements des extraits bruts exprimés en pourcentage.

En suivant l'évolution des rendements en extrait brut durant une année, nous remarquons que le meilleur rendement est marqué pendant le mois de janvier avec une valeur maximale de 11.235%, qui va être diminué jusqu'à l'obtention d'un rendement de l'ordre de 4% en mois de juin puis il reprend sa croissance pour arriver à 7.33% en décembre. Par contre, nous enregistrons une faible variation dans les rendements en extrait éthérique durant l'année avec une valeur optimale de 1.858% en mois de juin.

En comparaison avec l'espèce *C. tamariscifolia* récoltée en mois de février, les rendements enregistrés restent supérieurs d'après les travaux faits par **Ainane (2011)** où il a obtenu 5.67% pour le méthanol et 0.22% pour l'éther.

2- Teneurs en phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimées successivement en mg équivalents d'acide gallique (mg EAG) et mg équivalents de catéchine (mg EC) par g de la matière sèche (MS) (**Figure 17, 18, 19**).

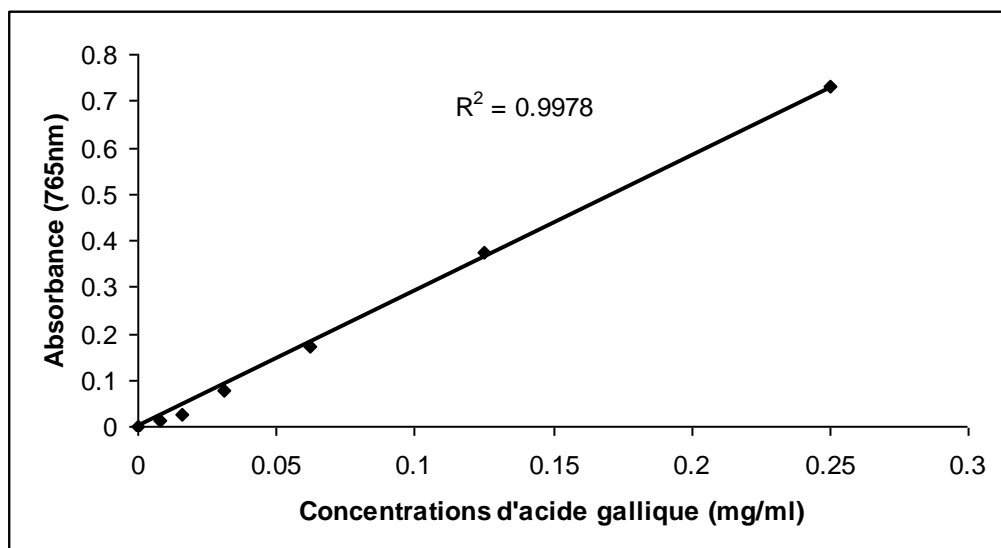


Figure 17: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

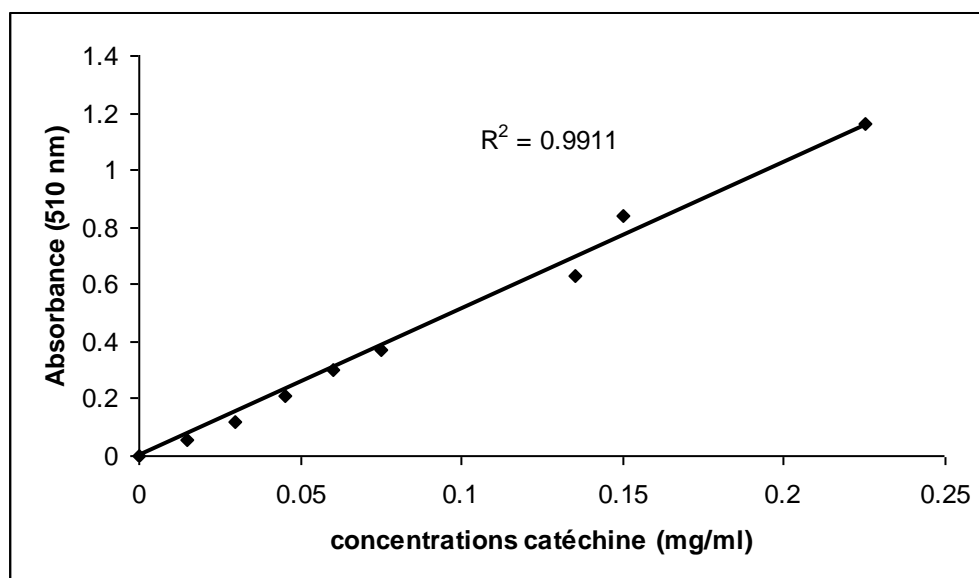


Figure 18: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

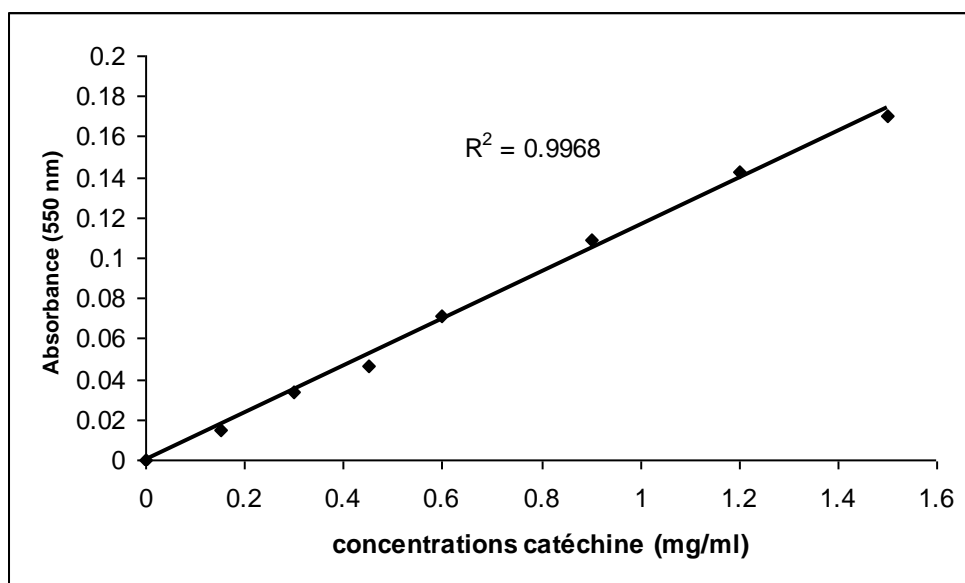


Figure 19: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

Le **tableau 8** résume les résultats obtenus des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les extraits bruts méthanolique et éthérique de *C. stricta* pour le mois de mars.

Tableau 8: Teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.

Extrait étudié	Phénols totaux (mg EAG/ g MS)	Flavonoïdes (mg EC/g MS)	Tanins condensés (mg EC/ g MS)
Extrait brut méthanolique	10.142 ± 0.163	4.910 ± 0.061	64.961 ± 2.039
Extrait brut éthérique	3.821 ± 0.0634	2.321 ± 0.217	34.065 ± 3.371

Nous observons que les teneurs élevées en phénols totaux, en tanins condensés et en flavonoïdes sont notés dans l'extrait méthanolique avec des concentrations de 10.142 ± 0.163 mg EAG/ g MS, 64.961 ± 2.039 mg EC/ g MS et 4.910 ± 0.061 mg EC/ g MS. Pour l'extrait éthérique, la teneur en tanins est aussi élevée, elle est de 34.065 ± 3.371 mg EC/ g MS.

Nos résultats concernant la teneur en phénols totaux de l'extrait méthanolique restent comparables avec les travaux de **Sadati et al. (2011)** et **Zubia et al. (2009)** sur les espèces *Cystoseira myrica* et *Cystoseira tamariscifolia* où les teneurs sont de 10.08 ± 1.13 mg EAG/ g MS et 10.91 ± 0.07 mg EAG/ g MS, respectivement. Alors que, **Reza Jassbia et al. (2013)** ont reporté une teneur faible de l'ordre de 0.17± 0.03 mg EAG/ g MS chez *C.myrica*.

Contrairement à nos résultats, **Alhazeer et al. (2013)** ont trouvé que la teneur en flavonoïdes était plus importante que celle des tanins pour la même espèce *C. stricta*.

3- Capacité antioxydante totale (CAT)

La **figure 20** résume les capacités antioxydantes totales des extraits bruts méthanolique et étherique du mois de mars exprimés en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS).

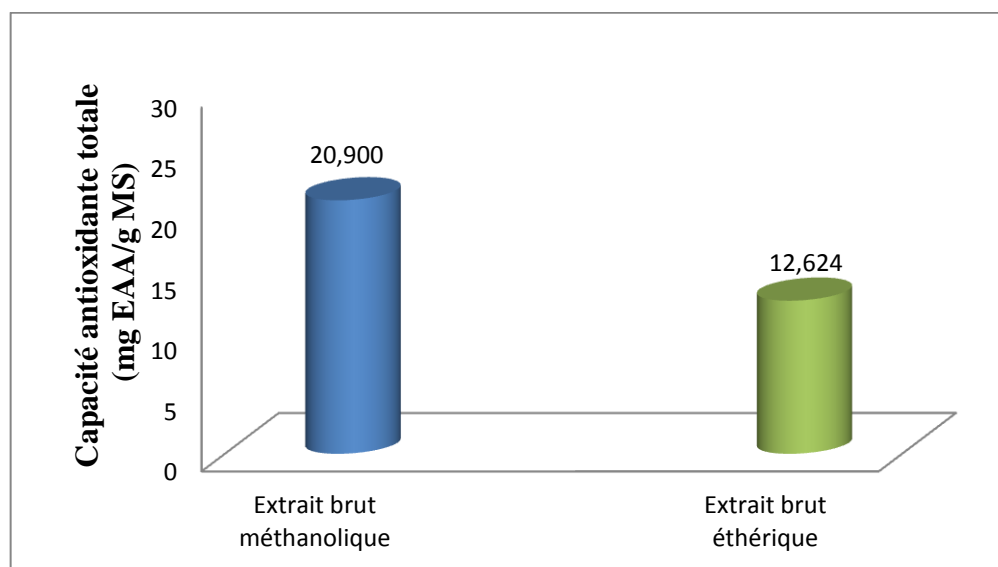


Figure 20: Capacité antioxydante totale des extraits de *C. stricta*.

L'extrait brut méthanolique possède la meilleure capacité antioxydante totale de l'ordre de 20.900 ± 2.037 mg EAA/g MS par rapport à l'extrait étherique qui a une valeur de 12.624 ± 1.406 mg EAA/g MS. Donc plus le solvant est polaire plus il y a d'activité.

En comparaison avec la littérature, l'extrait méthanolique de notre espèce a une faible capacité antioxydante totale par rapport aux travaux de **Sathya et al. (2013)** sur *Cystoseira trinodis* où ils ont enregistré une valeur proche de 110 mg EAA/g MS.

Chapitre II : Activité antimicrobienne

1- Résultats de la coloration de Gram

Les photos ci-dessous représentent la coloration de Gram des souches bactériennes testées observées par microscope optique, grossissement ($\times 100$) avec huile d'immersion.

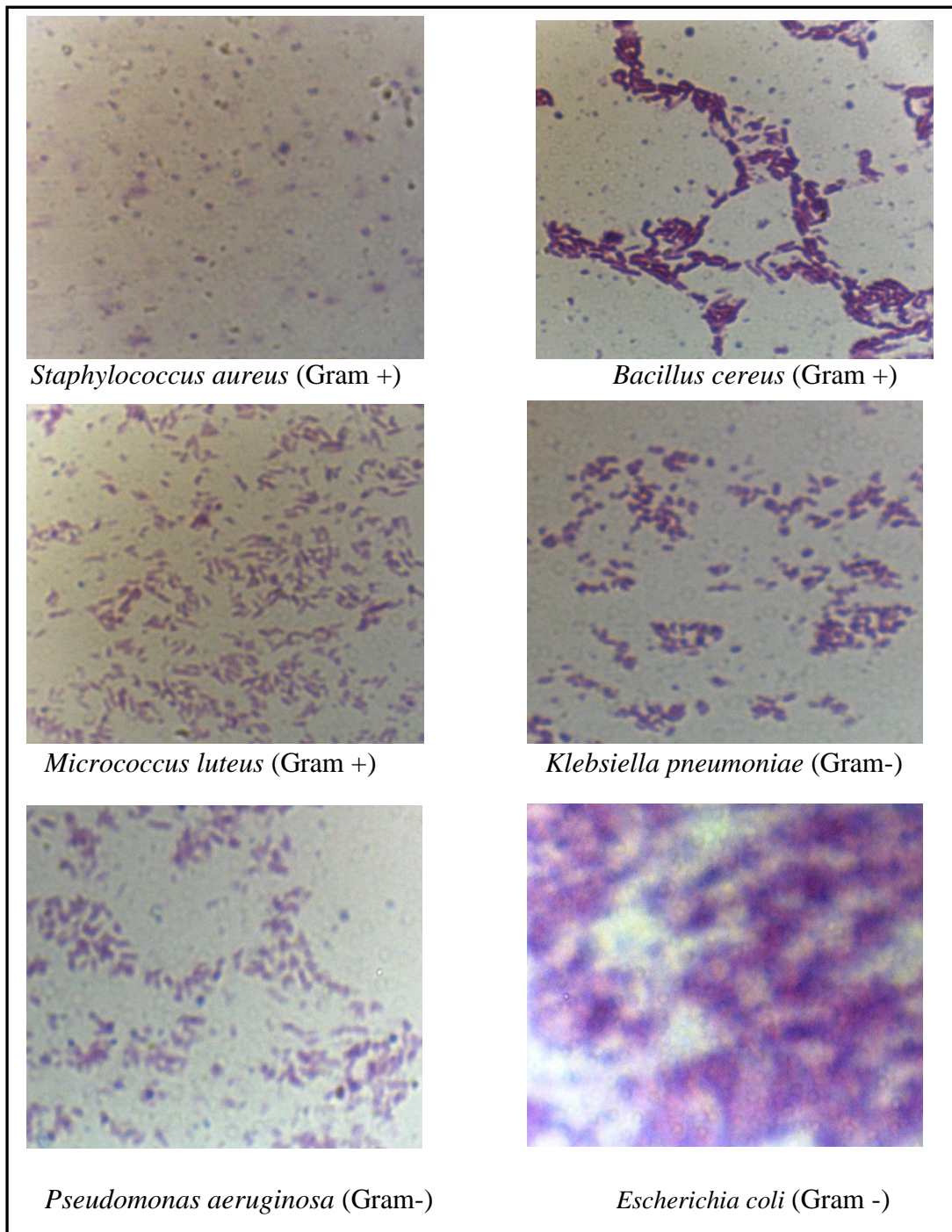


Figure 21: Photos représentant la coloration de Gram des souches bactériennes testées.

2- Résultats du test catalase

Toutes les souches bactériennes sont capables de dégrader le peroxyde d'hydrogène.

Tableau 9 : Résultats de la catalase.

Souches bactériennes	Catalase
<i>Bacillus cereus</i>	+
<i>Escherichia coli</i>	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+
<i>Micrococcus luteus</i>	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+

+ : Résultat positif.

3- Résultats de l'antibiogramme

3.1- *Bacillus cereus* ATCC 10876

Selon les résultats présentés dans la **figure 22**, les antibiotiques ayant les zones d'inhibitions les plus élevées sont : Lincomycine, Vancomycine et Tétracycline, avec des diamètres de 27, 21 et 21 mm respectivement.

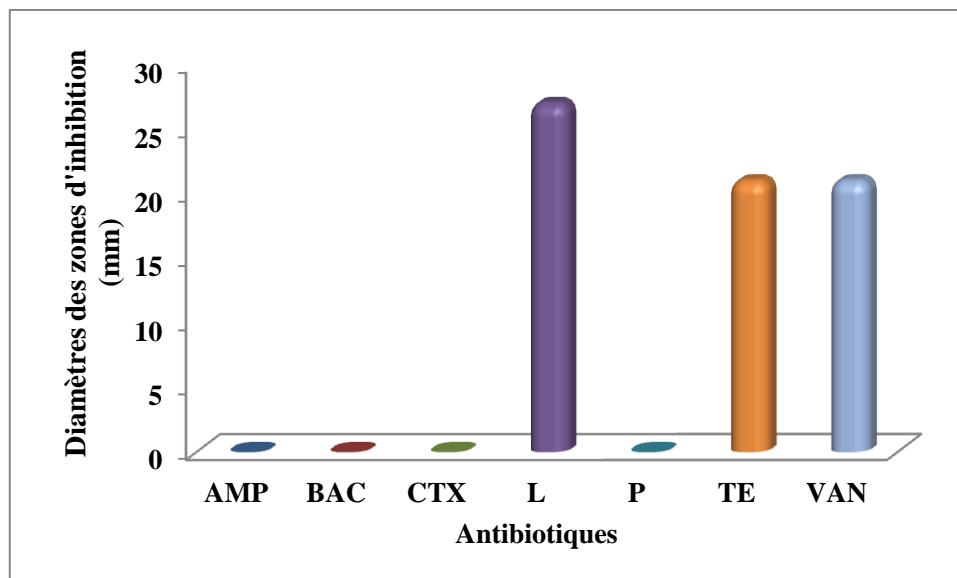


Figure 22 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Bacillus cereus* ATCC 10876.

L'interprétation des résultats obtenus montre une sensibilité de *B. cereus* en vers Lincomycine, Tétracycline et Vancomycine, tandis que les autres antibiotiques n'ont aucun effet inhibiteur sur la souche testée (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *Bacillus cereus* ATCC 10876 (CASFM, 2012).

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

S : Sensible, R : Résistante.

3.2- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

La **figure 23** montre une grande sensibilité de *Staphylococcus aureus* en vers tous les antibiotiques sauf la Bacitracine.

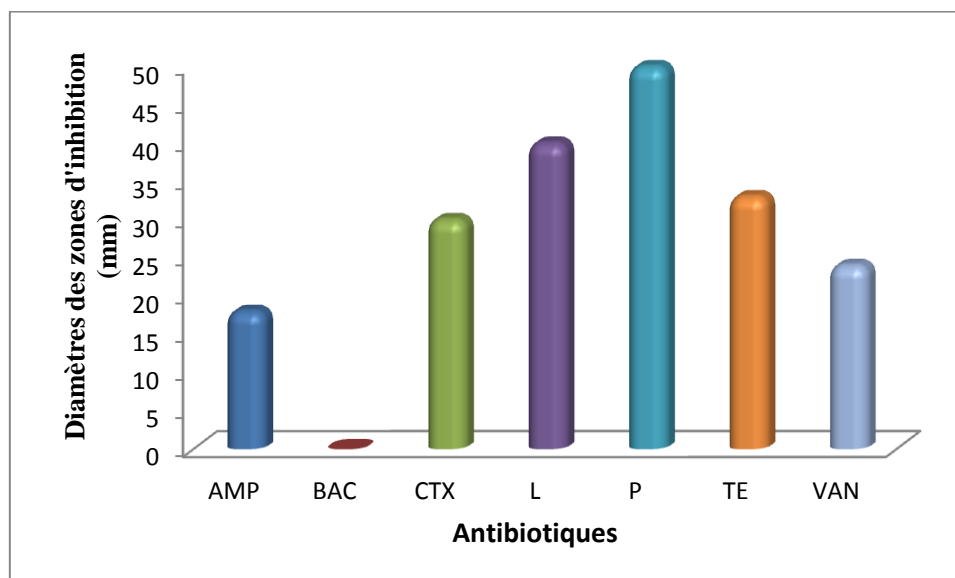


Figure 23 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

D'après l'interprétation mentionnée dans le **tableau 11**, *S.aureus* montre une résistance à la Bacitracine, une sensibilité intermédiaire à l'Ampicilline et sensible aux autres antibiotiques.

Tableau 11 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (CASFM, 2012).

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

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

3.3- *Micrococcus luteus* ATCC 9341

La **figure 24** montre une sensibilité remarquable de *M. luteus* en vers la Céfotaxime se traduisant par 40 mm de diamètre d'inhibition, aussi la Tétracycline avec 29 mm de diamètre de zone d'inhibition.

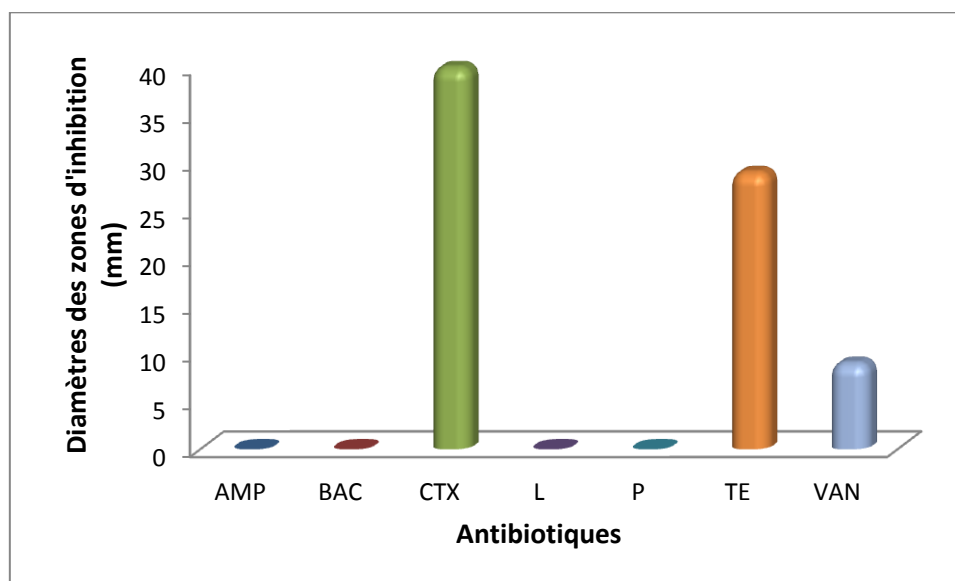


Figure 24 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Micrococcus luteus* ATCC 9341.

D'après le **tableau 12**, la souche testée est sensible aux Céfotaxime et Tétracycline et résistante aux autres antibiotiques.

Tableau 12 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (CASFM, 2012).

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

S : Sensible, R : Résistante.

3.4- *Escherichia coli* ATCC 8739

Cette souche à Gram négatif a une résistance contre presque tous les antibiotiques testés sauf le Céfotaxime et Tétracycline (**Figure 25**)

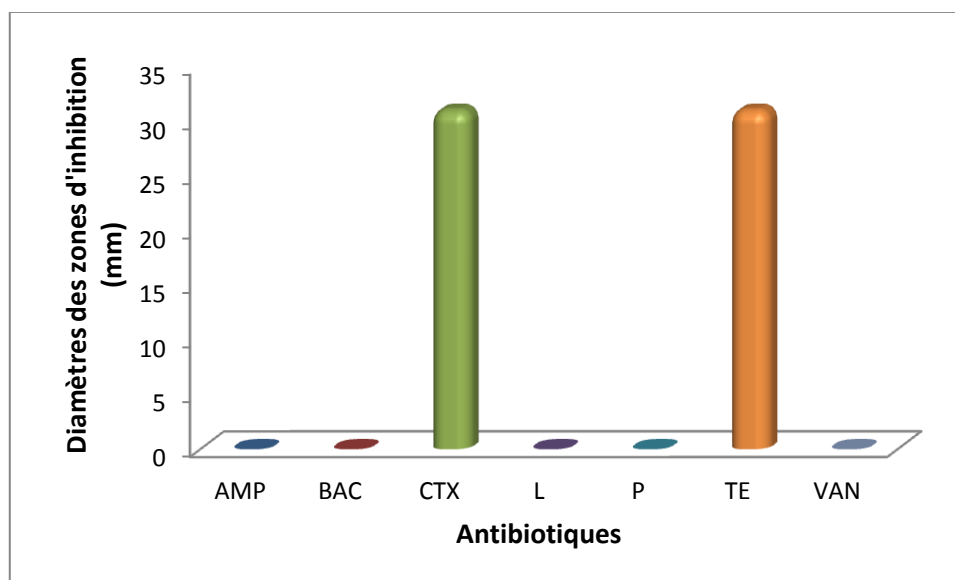


Figure 25 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Escherichia coli* ATCC 8739.

Nous avons révélé une sensibilité de la souche *E. coli* vis-à-vis de Céfotaxime et Tétracycline comme le montre le **tableau 13**.

Tableau 13 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *Escherichia coli* ATCC 8739 (CASFM, 2012).

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

S : Sensible, R : Résistante.

3.5- *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603

D'après la **figure 26**, nous constatons qu'à l'exception de Tétracycline et Céfotaxime où il y'a des zones d'inhibitions qui varient entre 15 et 27 mm. La souche *K. pneumonia* a présenté une résistance remarquable contre les autres antibiotiques testés.

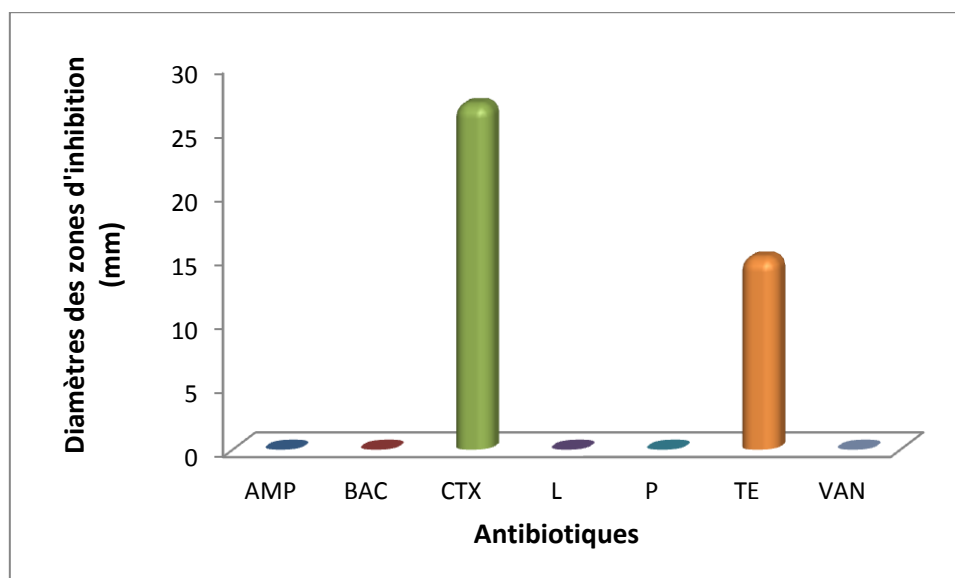


Figure 26 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603.

Le **tableau 14** résume l'interprétation des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques où cette souche n'est sensible qu'au Céfotaxime.

Tableau 14 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (CASFM, 2012).

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

S : Sensible, R : Résistante.

3.6- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

D'après la **figure 27**, nous constatons une faible sensibilité de la souche *P. aeruginosa* en vers la Céfotaxime, Tétracycline et Ampicilline avec des zones d'inhibitions de 9 à 18 mm.

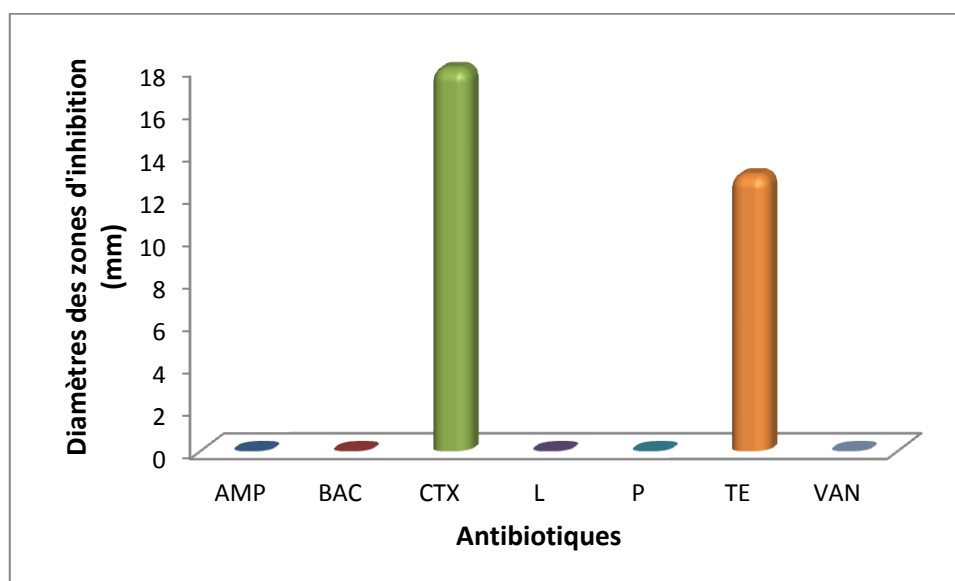


Figure 27 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

D'après les résultats du **tableau 15**, cette souche montre une résistance totale aux antibiotiques testés.

Tableau 15 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (CASFM, 2012).

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

R : Résistante.

3.7- *Candida albicans* ATCC 26790

La nystatine n'a donné aucune zone d'inhibition, donc la levure *C. albicans* a montré une résistance totale vis-à-vis cet antifongique.

4- Résultats de la méthode de disques

Pour vérifier le pouvoir antimicrobien du solvant de récupération des extraits méthanolique et étherique, le DMSO a été testé sur les souches utilisées avec une concentration de 10 µl par disque. Les résultats négatifs obtenus prouvent qu'il n'a aucun effet inhibiteur.

Pour les souches *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *M. luteus*, les extraits méthanolique et étherique de *C. stricta* n'ont montré aucune activité. Par contre, un effet inhibiteur est présent pour *S. aureus*, *B. cereus* et *C. albicans*.

❖ *Effet inhibiteur sur Bacillus cereus :*

La variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits sur *B. cereus* est représentée dans la **figure 28**.

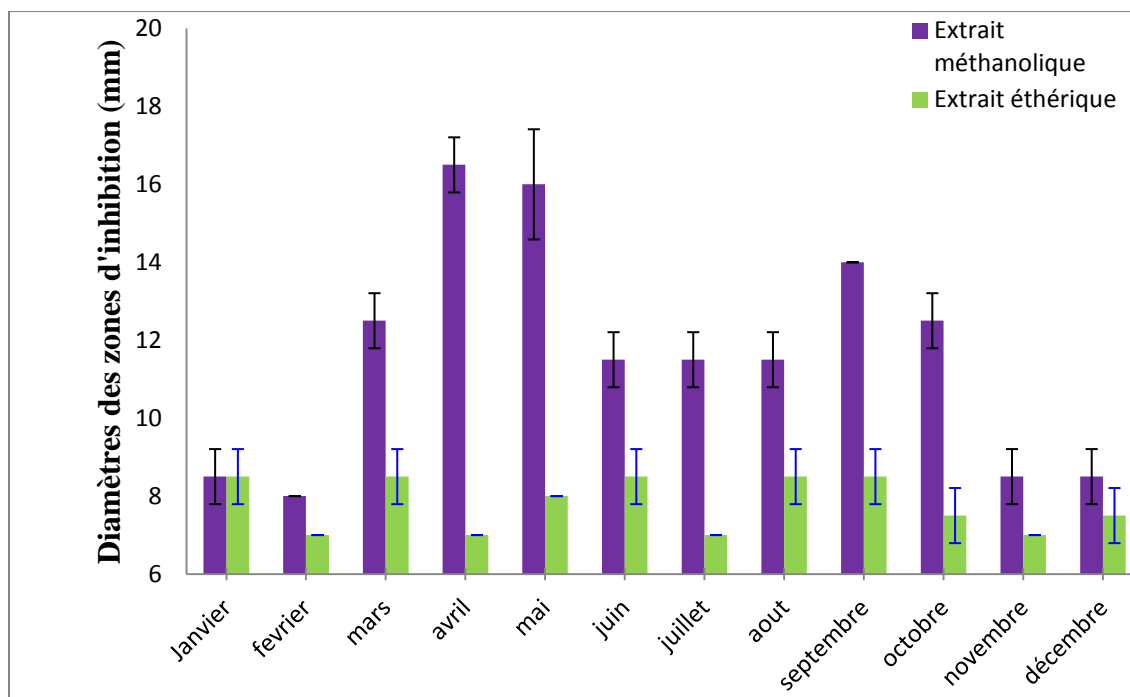


Figure 28 : Variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique et éthérique sur *Bacillus cereus*.

- En comparant les deux extraits, nous remarquons que l'activité de l'extrait méthanolique est plus importante que celle de l'extrait éthérique.
- Pendant la saison printanière, une activité inhibitrice maximale est enregistrée avec une zone d'inhibition de 16,5 mm.
- Une diminution et une stabilité de l'activité sont les caractéristiques de la saison estivale (juin, juillet et Aout).
- En mois de septembre, l'activité augmente une deuxième fois pour marquer une zone inhibitrice de 14 mm, puis un déclin s'installe jusqu'à 8,5 mm pour la saison hivernale.
- Pour l'extrait éthérique, les zones d'inhibition sont faibles durant toute l'année, elles sont comprises entre 7 et 8,5 mm.

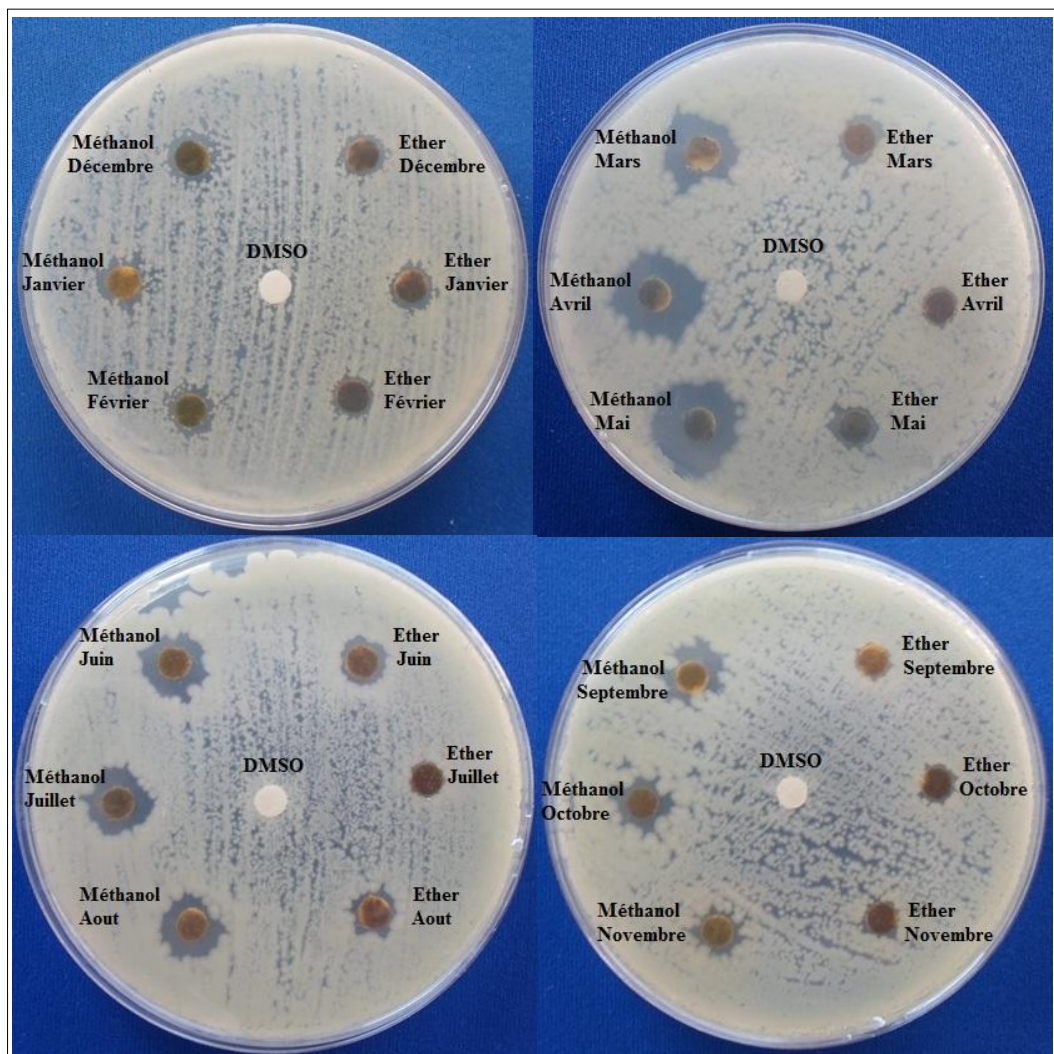


Figure 29 : Zones d'inhibitions des extraits méthanolique et étherique pour *Bacillus cereus*.

❖ Effet inhibiteur sur *Staphylococcus aureus* :

La variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits sur *S. cereus* est représentée dans la **figure 30**.

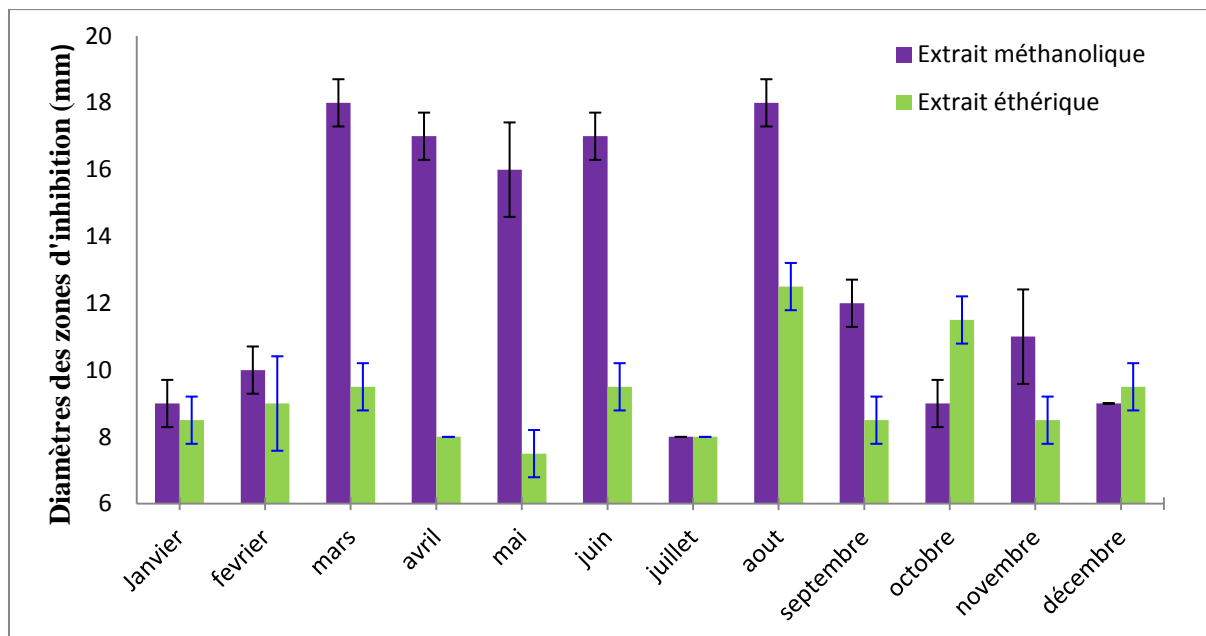


Figure 30 : Variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique et éthérique sur *Staphylococcus aureus*.

- Durant les mois de janvier et février, les extraits bruts ont une faible activité.
- Le sommet est atteint en mois de mars et aout pour l'extrait méthanolique avec une zone d'inhibition de 18 mm. Une activité assez élevée est aussi remarquée pour les mois d'avril, mai et juin qui se traduit par des diamètres d'inhibition de 16 et 17 mm.
- Pour les autre mois sauf septembre et novembre, cette activité de l'extrait méthanolique reste faible où les diamètres d'inhibition sont de 12 et 11 mm, respectivement.
- Pour l'extrait éthérique, l'activité antibactérienne est faible à l'exception des mois d'aout et octobre qui ont 12,5 et 11,5 mm de zone d'action.

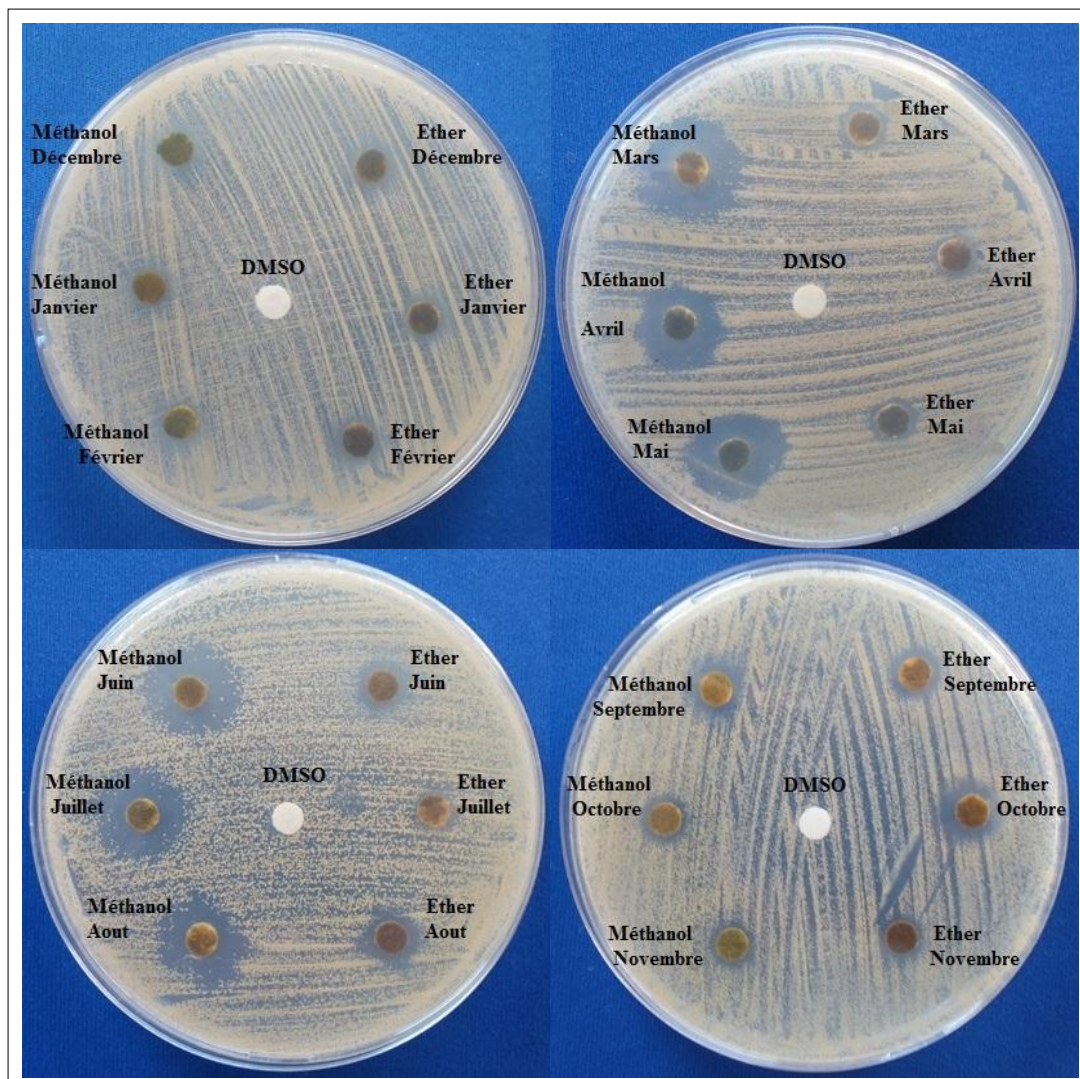


Figure 31 : Zones d'inhibitions des extraits méthanolique et étherique pour *Staphylococcus aureus*.

❖ Effet inhibiteur sur *Candida albicans* :

La variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits sur *C. albicans* est représentée dans la **figure 32**.

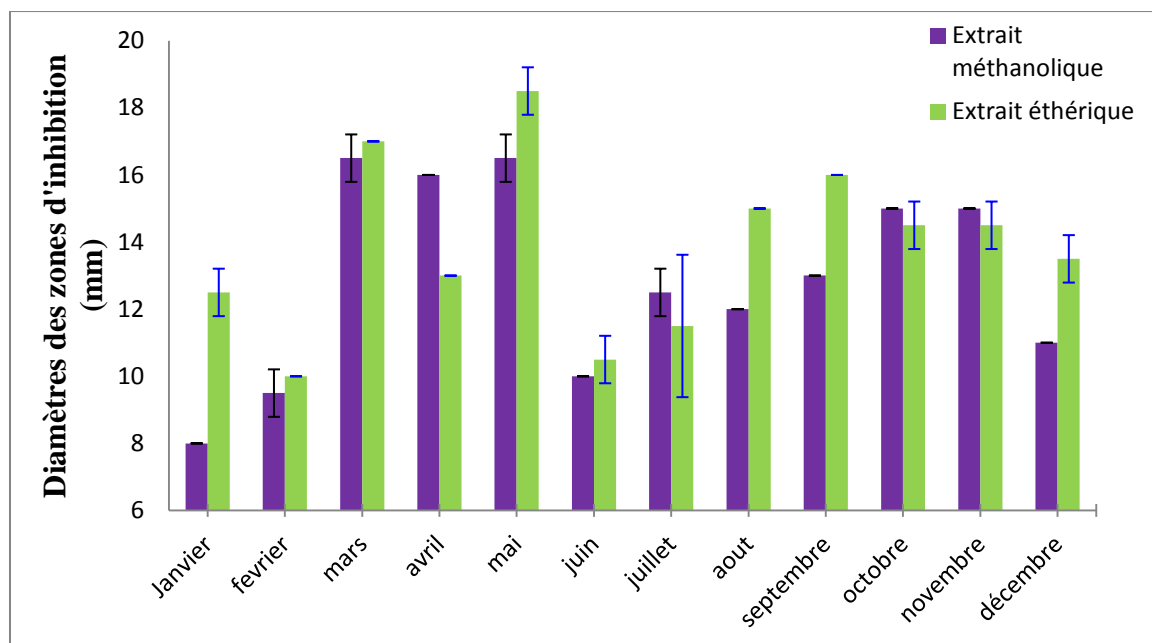


Figure 32 : Variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique et éthérique sur *Candida albicans*.

- Nous observons que l'extrait éthérique a un effet inhibiteur élevé sur *C. albicans* que l'extrait méthanolique.
- Pour l'extrait méthanolique, les mois les plus actifs sont : mars, avril, mai, octobre et novembre. La plus grande zone inhibitrice était celle du mois de mars et mai avec un diamètre de 16,5 mm, tandis que la plus faible valeur était celle du mois de janvier (8 mm).
- L'activité antifongique atteint son sommet avec une zone d'inhibition de 18,5 mm de diamètre pour l'extrait éthérique en mois de mai. Une activité assez importante doit être notée pour les mois de mars et septembre de l'ordre de 17 et 16 mm de spectre d'action, respectivement, pour le même extrait.
- Les zones d'inhibitions les plus faibles sont celles enregistrées en mois février et juin et qui ne dépassent pas 10,5 mm de diamètre. Les autres mois se caractérisent par une activité inhibitrice moyenne allant de 11,5 à 15 mm de diamètre.

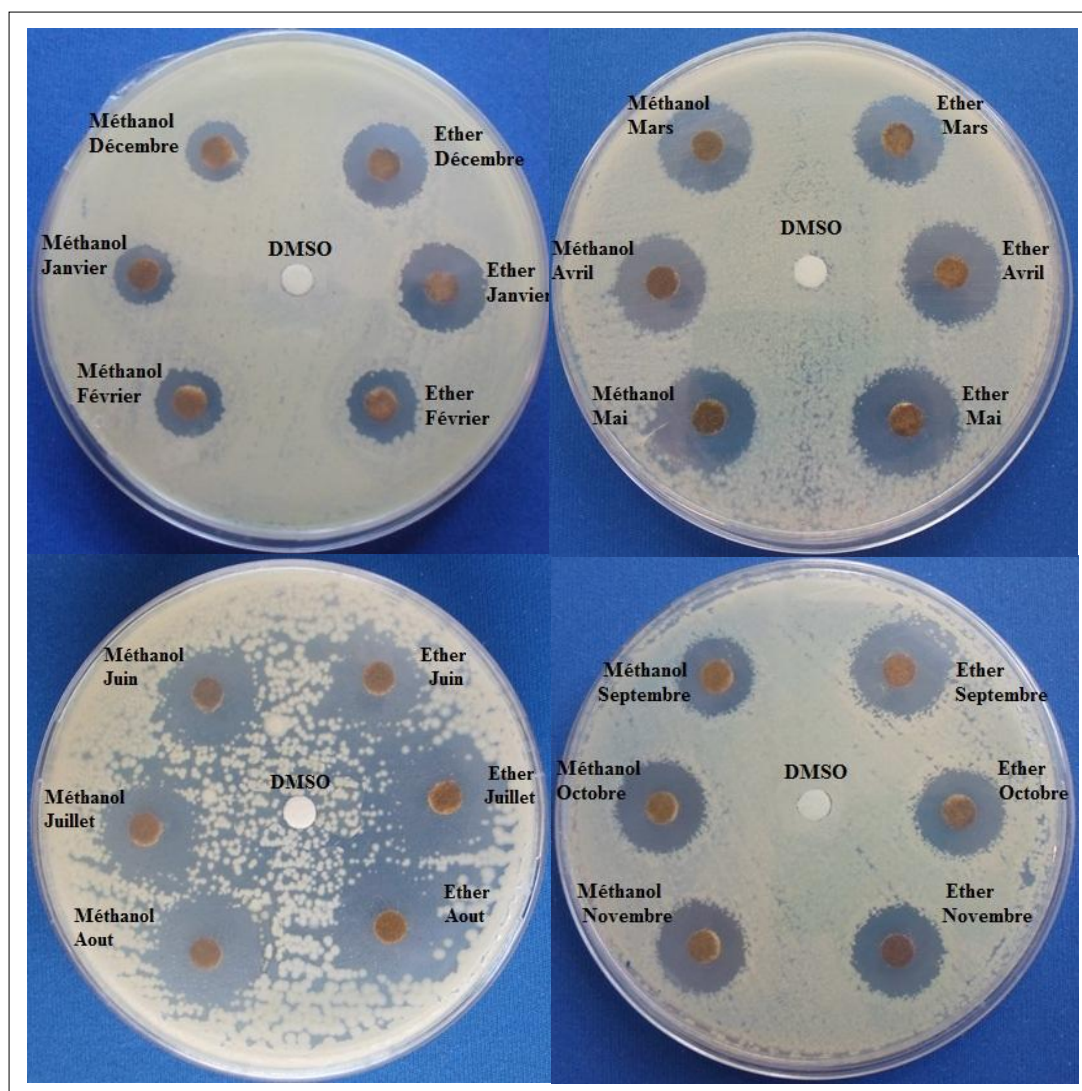


Figure 33 : Photos des zones d'inhibitions des extraits méthanolique et étherique pour *Candida albicans*.

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que l'extrait méthanolique était plus actif sur les souches *B. cereus* et *S. aureus*, inversement à l'extrait étherique qui avait une activité antifongique élevée sur *C. albicans*.

Comparativement à la littérature, l'extrait méthanolique de *C. stricta* a une activité antibactérienne supérieure à celle trouvée par **Alghazeer et al. (2013)**. Ces auteurs ont enregistré des zones inhibitrices de 13 à 15 mm pour les souches *B. cereus* et *S. aureus* respectivement.

Selon les études faites par **Ozdemir et al. (2006)**, **Tuney et al. (2006)**, **Taskin et al. (2007)** et **Reza Jassbi et al. (2012)**, les espèces *C. myrica*, *C. barbata* et *C. mediterranea* n'ont montré aucune activité antifongique, ce qui est totalement différents à nos résultats. Pour l'extrait éthérique, son activité inhibitrice contre les souches *S. aureus*, *B. cereus* et *C. albicans* reportée dans notre étude est absente dans les études de **Ibraheem et al. (2012)** et **Ainane et al. (2014)** sur *C. tamariscifolia*, *C. compressa* et *C. myrica* et **Tuney et al. (2006)** et **Ibraheem et al. (2012)** sur *C. mediterranea*, *C.compressa* et *C.myrica*.

En effet, cette variation du pouvoir antimicrobien peut être expliquée par le solvant d'extraction (**Salem et al., 2011**), la saison de récolte et les facteurs environnementaux tels que la température, la concentration de l'oxygène dissous et la salinité qui jouent un rôle très important sur le développement et la croissance des algues et sur l'élaboration de métabolites bioactifs (**Farid et al., 2009**).

Conclusion générale

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

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

Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à évaluer les activités antioxydante et antimicrobienne de l'algue brune *Cystoseira stricta* récoltée de la côte ouest algérienne de Ain-Temouchent.

Les résultats obtenus nous ont permis de conclure :

- ✓ Le rendement le plus élevé est de l'ordre de 11.235% pour l'extrait méthanolique en mois de janvier par contre l'extrait éthérique n'a atteint que 1.858% en mois de juin.
- ✓ La quantification des composés phénoliques pour l'extrait méthanolique montre que la teneur en phénols totaux est de l'ordre de 10.142 ± 0.163 mg EAG/ g MS. Alors que les teneurs en tanins condensés et en flavonoïdes sont respectivement de 64.961 ± 2.039 et 4.910 ± 0.061 mg EC/g MS. Ces teneurs sont élevées comparativement à celles reportées pour l'extrait éthérique qui révèle des valeurs de 3.821 ± 0.0634 mg EAG/ g MS en phénols totaux, de 34.065 ± 3.371 mg EC/ g MS en tanins condensés et de 2.321 ± 0.217 mg EC/ g MS en flavonoïdes.
- ✓ La capacité antioxydante totale de l'ordre de 20.900 ± 2.037 mg EAA/g MS pour l'extrait méthanolique est élevée par rapport à celle de l'extrait éthérique (12.624 ± 1.406 mg EAA/g MS).
- ✓ En ce qui concerne le pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion sur disques, l'extrait brut méthanolique était plus actif que l'extrait éthérique sur les deux souches *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Pour l'extrait méthanolique, le sommet est atteint en mois de mars contre *S. aureus* et en mois d'avril contre *B. cereus* avec des diamètres de zones d'inhibition de 18 et 16.5 mm, respectivement.

- ✓ Par ailleurs, *Candida albicans* était plus sensible à l'extrait éthérique qu'à l'extrait méthanolique où nous avons enregistré une inhibition optimale en mois de mai (18.5 mm de diamètre d'inhibition).

Les résultats obtenus *in vitro* ne sont qu'un premier pas dans la recherche des substances bioactives de *Cystoseira stricta*. Pour cela, nous envisageons de nombreuses perspectives, parmi elles:

- Développer les tests d'activité antioxydante en utilisant d'autres méthodes d'évaluations *in vivo* et *in vitro*.
- Evaluation quantitative des composés bioactifs par des méthodes spectrales (UV, RMN, SM) ou chromatographies (CCM, CC, HPLC, GC-MS).
- Exploiter ces molécules en biotechnologie comme antioxydants ou antibiotiques naturels sans effets néfastes pour la santé humaine.
- Etudier le pouvoir anti-inflammatoire.

Références bibliographiques

A

- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. 2007.** Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint Bone Spine*, 74 : 636–643.
- Ahamet, S. 2003.** Etudes phytochimiques et des activités biologiques de *Balanites aegyptica* (Balanitaceae). *Thèse de doctorat en pharmacie*, Université de Bamako, Mali.
- Ainane, T. 2011.** Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. *Thèse de doctorat en chimie*, Université Hassan II – Casablanca, Maroc.
- Alghazeer, R., Whida, F., Abduelrhman, E., Gammoudi, F., Azwai, S. 2013.** Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya. *Natural science*, 5: 7-14.
- Allane, T. 2009.** Etude des pouvoirs antioxydant et antibactérien de quelques espèces végétales locales alimentaires et non alimentaires. *Thèse de magister en biochimie*, Université M’hamed Bougara Boumerdes, Algérie.
- Amigo, V., Cunsolo, F., Piattelli, M., Ruberto, G. 1987 a.** Prenylated 0-Methyltoluquinols from *Cystoseira stricta*. *Phytochemistry*, 26 (6): 1719-1722.
- Amigo, V., Oriente, G., Neri, P., Piattelli, M., Ruberto, G. 1987 b.** Tetraprenyltoluquinols from the brown alga *Cystoseira stricta*. *Phytochemistry*, 26 (6): 1715-1718.
- Amico, V., Oriente, G., Piattelli, M., Ruberto, G., Tringali, C. 1982.** A quinone-hydroquinone couple from the brown alga *Cystoseira stricta*. *Phytochemistry*, 21 (2) : 421-424.
- Archambaud, M., Clave, D. 2007.** Fiche Technique : *Bacillus cereus*. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. Fiche technique _ Bactériologie 71 émis le 14 mars 2007.
- Asimi, S. 2009.** Influence des modes de gestion de la fertilité des sols sur l’activité microbienne dans un système de cultures de longue durée au Burkina Faso. *Thèse de doctorat en écologie*, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.
- Atwal, R. 2003.** *In vitro* antimicrobial activity assessment of *Zymox Otic* solution against a broad range of microbial organisms. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 1 (3): 240-252.

B

- Balboa, M.E., Conde, E., Moure, A., Falque, E., Dominguez, H. 2013.** *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry*, 138: 1764-1785.
- Ballesteros, E., Torras, X., Pinedo, S., Garcia, M., Mangialajo, L., De Torres, M. 2007.** A new methodology based on littoral community cartography for the implementation of the European water framework directive. *Marine Pollution Bulletin*, 55: 172-180.
- Berman, J. 2003.** Current treatment approaches to leishmaniasis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 16: 397-401.
- Blanc, V., Mesa, R., Saco, M., Lavilla, S., Prats, G., Miro, B., Navarro, F., Corte's, P., Llagostera, M. 2006.** ESBL - and plasmidic class C b-lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Veterinary Microbiology*, 118: 299–304.
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Munro, M.H.G., Northcote, P.T., Prinsep, M.R. 2012.** Marine natural products. *Natural Product Reports*, 29: 144-222.
- Boulekbache-Makhlouf, L., Slimani, S., Madani, K. 2012.** Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 41: 85-89.
- Broadasky, T. F., Lewis, C., Eble, T.E. 1976.** Bioautographic thin-layer chromatographic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal: 1. Clindamycin in the rat. *Journal of Chromatography*, 123: 33-44.

C

- Cabioc'h, J., Floch, J.-Y., Le Toquin, A., Boudouresque, C.-F., Meinesz, A., Verlaque, M. 2006.** Guide des algues des mers d'Europe, manche, atlantique, méditerranée, Les guides du naturaliste. Edition Delachaux & Niestle. Ed 1, p 272.
- Callon, C., Gilbert, FB., De Cremoux, R., Montel, MC. 2008.** Application of variable number of tandem repeat analysis to determine the origin of *S. aureus* contamination from milk to cheese in goat cheese farms. *Food Control*, 19: 143-150.
- CASFM.** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Edition janvier 2012.

- Chiheb, I., Riadi, H., Martinez-Lopez, J., Dominguez, S.J.F., Gomez, V.J.A., Bouziane, H., Kadiri, M. 2009.** Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology*, 8 (7): 1258-1262.
- Cho, GY., Rousseau, F., De Reviere, B., Boo, SM. 2006.** Phylogenetic relationships within the Fucales (Phaeophyceae) assessed by the photosystem I coding *psaA* sequences. *Phycologia*, 45 : 512-519.
- Chouder, N. 2006.** Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionnels sains. *Thèse de magister en médecine vétérinaire*, Université Mentouri Constantine. Algérie.
- Clayton, M. 1990.** The adaptive significance of life history characters in selected orders of marine brown macroalgae. *Australian Journal of Ecology*, 15: 439–452.
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Ben Rais Lasram, F., Aguzzi, J., Ballesteros, E., Bianchi, C.N et al. 2010.** The Biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, Patterns, and Threats. *Revue. Plos One*, 5 (8): 1932-1940.

D

- De Reviere, B. 2002.** Biologie et phylogénie des algues. Edition Belin, tome 1, p 351.
- Delarras, C. 2010.** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Edition Lavoisier. 2^{ème} édition, p 136-137.

E

- Ekoumou, C. 2003.** Étude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. *Thèse de doctorat en pharmacie*, Université de Bamako, Mali.
- Euzéby, J. P. 2010.** List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47 : 13-17.

F

- Farid, Y., Etahiri, S., Assobhei, O. 2009.** Activité antimicrobienne des algues marines de la lagune d'Oualidia (Maroc) : Criblage et optimisation de la période de la récolte. *Journal of Applied Biosciences*, 24: 1543-1552.

- Favier, A. 2003.** Le stress oxydant intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 1 : 108-115.
- Fischer, W., Schneider, M., Bauchot, M.L. 1987.** Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Révision 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Volume I. Végétaux et Invertébrés. *FAO*, 1: 760 p.
- Frestedt, J., Zenk, J., Kuskowski, M., Ward, L., Bastian, E. 2008.** A whey-protein supplement increases fat loss and spares lean muscle in obese subjects: a randomized human clinical study. *Nutrition and Metabolism*, 5 (8): 1-7.

G

- Gómez Garreta, A. 2000.** Flora phycologica ibérica: Fucales. Edition Universidad de Murcia, volume 1, p 24.
- Gonzalez del Val, A., Platas, A., Basilio, A., Cabello, J., Gorrochategui, I., Suay, F., Vicente, E., Portillo, M., Jimenez del Rio, G., Reina, F. 2001.** Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *International Microbiology*, 4: 35-40.
- González, R., Rodriguez, S., Romay, C., Ancheta, O., González, A., Armesto, J., Ramirez, D., Merino, N. 1999.** Anti-inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid-induced colitis in rats. *Pharmacological Research*, 39 (1): 55-59.
- Gow, N. A. 2002.** *Candida albicans* switches mates. *Mol Cell*, 10: 217-218.
- Guern, M. 1962.** Embryologie de quelques espèces du genre *Cystoseira agardh* 1821 (Fucales). *Vie et Milieu, Série A Biologie Marine*, 13 : 649-679.
- Guillard, P. 2003.** Modélisation de la thermorésistance, de la viabilité et du comportement à la recroissance de *Bacillus cereus*, en fonction de la température, du pH et de l'activité aqueuse. *Thèse de doctorat en microbiologie*, Université de Bretagne Occidentale. France.
- Guillaume, P. 2010.** Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes-Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de micro-organismes impliquées dans leur adhésion. *Thèse de doctorat en biochimie*, Université de La Rochelle, France.
- Guiry, M.D., Guiry, G.M. 2014.** AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on (12/06/2014).

H

Hortense, F. 2011. Les applications et la toxicité des algues marines. *Thèse de doctorat en pharmacie*, Université de Limoges. France.

I

Iatrides, M., Artaud, J., Vicente, N. 1983. Composition en stérols de végétaux marins méditerranéens, *Oceanologica Acta*, 6: 73-77.

Ibraheem, IBM., Abdel-Raouf, N., Abdel-Hameed, M.S., El-Yamany, K. 2012. Antimicrobial and antiviral activities against Newcastle disease virus (NDV) from marine algae isolated from Qusier and Marsa-Alam Seashore (Red Sea), Egypt. *African Journal of Biotechnology*, 11(33): 8332-8340.

Iddou, A., Hadj Youcef, M., Aziz, A., Ouali, M. 2011. Biosorptive removal of lead (II) ions from aqueous solutions using *Cystoseira stricta* biomass: Study of the surface modification effect. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15: 83-88.

J

Julkunen-Titto, R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 33 : 213-217.

L

Lacolley, P. 2007. Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. John Libbey Eurotext. Ed 1. p 311.

Lagane, C. 2007. Rôle de l'il-13 et des ligands de ppar- γ dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *Candida albicans*. Implication de ppar- γ . *Thèse de doctorat en microbiologie*, Université Toulouse III – Paul Sabatier, France.

Lahaye, M. 1991. Marine algae as sources of fibres: determination of soluble and insoluble dietary fibre contents in some sea vegetables. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 54 : 587-594.

Le Lann, K. 2009. Etude de la biodiversité des Sargassaceae (Fucales, Phaeophyceae) en milieux tempéré et tropical : écologie, chimiotaxonomie et source de composés bioactifs. *Thèse de doctorat en écologie*, Université de Bretagne Occidentale. France.

Leclerc, V. 2010. Les secrets des algues. 1^{ère} Edition Quae, p13.

Lesueur, D., Serra, D.de Rocca, Bighelli, A., Hoi T.M., Ban, N.K., Thai, T.H., Casanova, J. 2007. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Merryll ex Dandy from Vietnam. *Flavour and Fragrance Journal*, 22 : 317-321.

M

Maro, D., Hebert, D., Gandon, R., Solier, L. 1999. Dosage par spectrométrie gamma de l'iode 129 dans les échantillons biologiques marins et terrestres, Application à des algues prélevées le long des côtes de la Manche : *Fucus serratus* et *Laminaria digitata*. *Radioprotection*, 34 (1): 13-24.

Mesguiche, V., Valls, R., Piovetti, L., Banaigs, B. 1997. Meroditerpenes from *Cystoseira amentacea* var. *stricta* collected off the mediterranean coasts. *Phytochemistry*, 45 (7): 1489-1494.

Mohamed, S., Hashim, S.N., Rahman, A.H. 2012. Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends in Food Science & Technology*, 23: 83-96.

N

Nicklin, J., Graeme-Cook, K., Paget, T., Killington, R. 2000. L'essentiel en microbiologie. Edition Berti. Ed1. 365 p.

O

Ozdemir, G., Horzum, Z., Sukatar, A., Karabay-Yavasoglu, U. 2006. Antimicrobial activities of volatile components and various extracts of *Dictyopteris membranaceae* and *Cystoseira barbata* from the Coast of Izmir, Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 44(3): 183-188.

P

Pádula, M., Boiteux, S. 1999. Photodynamic DNA damage induced by phycocyanin and its repair in *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 32(9): 1063-1071.

- Parazols, M. 2007.** Caractérisation physico-chimique et réactivité de la phase aqueuse des nuages prélevée au sommet du puy de Dôme. *Thèse de doctorat en chimie*, Université Blaise Pascal, France.
- Pellegrini, L., Pellegrini, M. 1971.** Contribution à l'étude biochimique des Cystoseiracées Méditerranéennes I *Cystoseira stricta* (Mont.) Sauvageau. *Botanica Marina*, 14 : 6-16.
- Pelmont, J. 1993.** Bactéries et environnement (adaptation physiologique). *Presses Universitaires de Grenoble*, 897 p.
- Pérez, R. 1997.** Ces algues qui nous entourent. Editions Quae, 272 p.
- Person, J. 2011.** Algues, filières du futur. Edition Adebitech. Ed 1, p 4, 59.
- Phillips, N., Burrowes, R., Rousseau, F., De Reviere, B., Saunders, GW. 2008.** Resolving evolutionary relationships among the brown algae using chloroplast and nuclear genes. *Journal of Phycology*, 44 : 394-405.
- Poortmans, J., Boisseau, N. 2003.** Biochimie des activités physiques. Edition De Boeck Supérieur. Ed 1. p 412-413.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex : specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*, 269: 337-341.

R

- Rahal, K., Benslimani, A., Tali-Maamar, H., Missoum, M.F.K., Kechih-Boumar, S., Ammari, H. 2011.** Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). 6^{ème} édition. Document édité avec la collaboration de l'OMS. p192.
- Raud, P. 2003.** Etude de la diversité génétique des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrice de la bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), isolé au C.H.U de Nantes, de 1990 à 2001. *Thèse de doctorat en microbiologie*. Université de Nantes, France.
- Remirez, D., González, A., Merino, N., González, R., Ancheta, O., Romay, C., Rodríguez, S. 1999.** Effect of phycocyanin in zymosan-Induced arthritis in mice- phycocyanin as an antiarthritic compound. *Drug Development Research*, 48 : 70-75.
- Reza Jassbi, A., Mohabati, M., Eslami, S., Sohrabipour, J., Miri, R. 2013.** Biological activity and chemical constituents of red and brown algae from the Persian Gulf. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12 (3): 339-348.

- Robert, D. 2013.** Staphylococcus aureus résistant à la métiline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. *Thèse de doctorat en microbiologie*, Université Angers, France.
- Robvieux, P. 2013.** Conservation des populations de *Cystoseira* en régions Provence-Alpes-Côte-D'azur et Corse. *Thèse de doctorat en sciences de l'univers*, Université de Nice-Sophia Antipolis - UFR Sciences, France.
- Rousseau, F., De Reviers, B. 2013.** Phylogenetic relationships within the Fucales (Phaeophyceae) based on combined partial SSU + LSU rDNA sequence data. *European Journal of Phycology*, 34: 53-64.

S

- Ruberto, G., Baratta1, M., Biondi1, D., Amico, V. 2001.** Antioxidant activity of extracts of the marine algal genus *Cystoseira* in a micellar model system. *Journal of Applied Phycology*, 13 : 403-407.
- Salem, W. M., Galal, H; Nasr El-deen, F. 2011.** Screening for antibacterial activities in some marine algae from the red sea (Hurghada, Egypt). *African Journal of Microbiology Research*, 5 (15): 2160-2167.
- Sathya, R., Kanaga, N., Sankar, P., Jeeva, S. 2013.** Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsska) C. Agardh. *Arabian Journal of Chemistry*. In press. DOI: 10.1016/j.arabjc.2013.09.039
- Sauvageau, C. 1912.** A propos des *Cystoseira* de Banyuls et de Guéthary. *Bull. de la Station Biologique d'Arcachon*, 14 : 133–556.
- Scheen, AJ. 2004.** Le médicament du mois Insuline glargine. *Revue médicale de Liège*, 59 (2) : 110-114.
- Shibata, T., Ishimaru, K., Kawaguchi, S., Yoshikawa, H., Hama, Y. 2008.** Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae. *Applied Phycology*, 20: 705-711.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Sudbery, P., Gow, N., Berman, J. 2004.** The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol*, 12 : 317-324.

Susini, M.A., Thibault, T., Meinesz, A., Forcioli, D. 2007. A preliminary study of genetic diversity in *Cystoseira amentacea* (C. Agardh) Bory var. *stricta* Montagne (Fucales, Phaeophyceae) using random amplified polymorphic DNA. *Phycologia*, 46 (6): 605-611.

T

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

Thiebault, C., Sprumont, P. 1997. L'enfant et le sport : Introduction à un traité de médecine du sport chez l'enfant. Edition De Boeck Supérieur. Ed 1. p 145.

Tuney, U., Cadirci, H., Unal, D., Sukatar, A. 2006. Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Üzmir, Turkey). *Turkish journal of biology*, 30: 171-175.

V

Valls, R., Mesguiche, V., Piovetti, L., Prost, M., Peiffer, G. 1996. Meroditerpenes from the brown alga *Cystoseira amentacea* var. *stricta* collected off the French mediterranean coast. *Phytochemistry*, 41 (5): 1367-1371.

W

Watanabe, F., Takenaka, S., Katsura, H., Zakir Hussain Masumder, S. A. M., Abe, K., Tamura, Y., Nakano, Y. 1999. Dried green and purple lavers (nori) contain substantial amounts of biologically active vitamin b₁₂ but less of dietary iodine relative to other edible seaweeds. *Agricultural and Food Chemistry*, 47 (6): 2341-2343.

Widjaja-Adhi, A.M.K., Hosokawa, M., Miyashita, K. 2011. Comparative antioxidant activity of edible Japanese brown seaweeds. *Journal of Food Science*, 76: 104-111.

Y

Yan, X., Chuda, Y., Suzuki, M., Nagat, T. 1999. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hifikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Bioschi Biotechnol Biochem*, 63(3): 605-607.

Yong-Xin, L., Isuru, W., Yong, L., Se-Kwon, K. 2011. Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochemistry*, 46: 2219-2224.

Z

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64 (4): 555-559.

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture.

Muller Hinton Agar (MH) :

Infusion de viande de bœuf.....	2 g
Hydrolysate de caséine.....	17.5 g
Amidon.....	1.5 g
Agar.....	17 g
Eau distillée.....	1000 ml

BHIB :

Protéose-peptone.....	10g
Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de cœur de bœuf.....	5 g
Glucose.....	2 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Hydrogénophosphate de sodium.....	2.5 g

Sabouraud :

Peptone de gélatine.....	10 g
Glucose.....	20 g
Agar.....	17 g
Eau distillée.....	1000 ml

Annexe 2 : Résultats de l'antibiogramme de la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Antibiotiques	Interprétations de l'antibiogramme	Diamètres des zones d'inhibition (mm)
Ampicilline	I	18
Bacitracine	R	0
Céfotaxime	S	30
Lincomycine	S	40
Pénicilline	S	50
Tétracycline	S	33
Vancomycine	S	24

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

Annexe 3 : Résultats de l'antibiogramme de la souche *Bacillus cereus* ATCC 10876.

Antibiotiques	Interprétations de l'antibiogramme	Diamètres des zones d'inhibition (mm)
Ampicilline	R	0
Bacitracine	R	0
Céfotaxime	R	0
Lincomycine	S	27
Pénicilline	R	0
Tétracycline	S	21
Vancomycine	S	21

S : Sensible, **R** : Résistante.

Annexe 4 : Résultats de l'antibiogramme de la souche *Micrococcus luteus* ATCC 9341.

Antibiotiques	Interprétations de l'antibiogramme	Diamètres des zones d'inhibition (mm)
Ampicilline	R	0
Bacitracine	R	0
Céfotaxime	S	40
Lincomycine	R	0
Pénicilline	R	0
Tétracycline	S	29
Vancomycine	R	9

S : Sensible, **R** : Résistante.

Annexe 5 : Résultats de l'antibiogramme de la souche *Escherichia coli* ATCC 8739.

Antibiotiques	Interprétations de l'antibiogramme	Diamètres des zones d'inhibition (mm)
Ampicilline	R	0
Bacitracine	R	0
Céfotaxime	S	31
Lincomycine	R	0
Pénicilline	R	0
Tétracycline	S	31
Vancomycine	R	0

S : Sensible, **R** : Résistante.

Annexe 6 : Résultats de l'antibiogramme de la souche *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603.

Antibiotiques	Interprétations de l'antibiogramme	Diamètres des zones d'inhibition (mm)
Ampicilline	R	0
Bacitracine	R	0
Céfotaxime	S	27
Lincomycine	R	0
Pénicilline	R	0
Tétracycline	R	15
Vancomycine	R	0

S : Sensible, **R** : Résistante.

Annexe 7 : Résultats de l'antibiogramme de la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Antibiotiques	Interprétations de l'antibiogramme	Diamètres des zones d'inhibition (mm)
Ampicilline	R	0
Bacitracine	R	0
Céfotaxime	R	18
Lincomycine	R	0
Pénicilline	R	0
Tétracycline	R	13
Vancomycine	R	0

R : Résistante.

Annexe 8 : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits bruts méthanolique et étherique de *Cystoseira stricta* exprimés en diamètres des zones d'inhibition (mm).

Mois	Extraits bruts	Diamètres d'inhibition pour <i>S.aureus</i>	Diamètres d'inhibition pour <i>B.cereus</i>	Diamètres d'inhibition pour <i>C.albicans</i>
Janvier	méthanolique	9.5 ± 0.707	85 ± 0.707	8
	éthérique	8.5 ± 0.707	8.5 ± 0.707	12.5 ± 0.707
Février	méthanolique	9.5 ± 0.707	8	9.5 ± 0.707
	éthérique	9 ± 1.414	7	10
Mars	méthanolique	17.5 ± 0.707	12.5 ± 0.707	16.5 ± 0.707
	éthérique	9.5 ± 0.707	8.5 ± 0.707	17
Avril	méthanolique	17.5 ± 0.707	16.5 ± 0.707	16
	éthérique	8	7	13
Mai	méthanolique	17 ± 1.414	16 ± 1.414	16.5 ± 0.707
	éthérique	7.5 ± 0.707	8	18.5 ± 0.707
Juin	méthanolique	16.5 ± 0.707	11.5 ± 0.707	10
	éthérique	9.5 ± 0.707	8.5 ± 0.707	10.5 ± 0.707
Juillet	méthanolique	16	11.5 ± 0.707	12.5 ± 0.707
	éthérique	8	7	11.5 ± 2.121
Aout	méthanolique	17.5 ± 0.707	11.5 ± 0.707	12
	éthérique	12.5 ± 0.707	8.5 ± 0.707	15
Septembre	méthanolique	11.5 ± 0.707	14	13
	éthérique	8.5 ± 0.707	8.5 ± 0.707	16
Octobre	méthanolique	9.5 ± 0.707	12.5 ± 0.707	15
	éthérique	11.5 ± 0.707	7.5 ± 0.707	14.5 ± 0.707
Novembre	méthanolique	10 ± 1.414	8.5 ± 0.707	15
	éthérique	8.5 ± 0.707	7	14.5 ± 0.707
Décembre	méthanolique	9	8.5 ± 0.707	11
	éthérique	9.5 ± 0.707	7.5 ± 0.707	13.5 ± 0.707