

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

Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Option : Microbiologie Alimentaire Santé

Thème

**Contribution à l'étude de l'activité
antibactérienne de quatre algues
marines de la côte de Bejaia**

Présenté par :
M^{elle} Ziani leila

Membre du Jury :

Président : M^{elle} Djinni, I.

Promotrice : M^{me} Idres-Keramane, B.

Examinatrice : M^{me} Mouici, K.

Examinatrice : M^{me} Yahiaoui, H.

Remerciements

Au terme de mon travail

Je tiens à remercier ma promotrice M^{me} IDRES-KERAMANE. B, pour son encadrement très appréciés, pour la confiance qu'elle m'a témoignée, pour sa disponibilité et ses encouragements qui m'ont permis de mener a bien cette étude.

Je remercie vivement le jury d'avoir accepté de juger et de valoriser Mon travail.

Mes vifs remerciements vont à M^{me} Saadoun et M^{me} Souagui pour leurs aides.

Je remercie M^r Touati pour sa présence durant tout le cursus universitaire

Je ne remercierai jamais assez mes parents, mes sœurs et mon mari pour leurs encouragements, compréhensions et soutien.

Je remercie Mes amis, M^{elle} Zaidi lola, qui a été présente pour moi dans les moments les plus difficile, ainsi que M^{elle} Yousfi Nora, M^{elle} Alouache Zahra, M^{elle} Yahia cherif Imen et M^{elle} Mebarkî Hinda.

Je remercie aussi toute l'équipe CEVITAL

F.bouhamou, F.yagoub, D.amouri, N.arab ainsi que l'équipe du secrétariat Sonia ; Samira et Chafia.

LEILA . Z

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes parents que j'aime plus que tout

Mes sœurs Nadia et Naziha

Mon Mari Souhil

Tonton Mustapha et tata Leila

Hakim, Dida et Feriel

*Mes cousins et Mes cousines dont Maha
Amina, Sara et Keltoum*

Tous mes amis

Liste des tableaux

Tableau I : Les pigments correspondants aux trois divisions d'algues.....	03
Tableau II: les différents composés bioactifs des algues et leurs activités prouvées.....	06
Tableau III: Caractéristiques botaniques des espèces d'algues marines récoltées.....	09
Tableau IV: Souches bactériennes utilisées.....	10
Tableau V: caractères bactériologiques, biochimiques, et pouvoir pathogène des différentes souches bactériennes testé	11
Tableau VI : les conditions de l'extraction accélérée par solvant (ASE).....	14
Tableau VII : Concentrations minimales inhibitrices des différents extraits d'algues vis-à-vis des bactéries GRAM négatif	33
Tableau VIII : Concentrations minimal inhibitrice des différents extraits d'algues vis-à-vis des bactéries GRAM positif	33

Liste des figures

Figure 01 :: appareil végétatif des algues marines.....	02
Figure 02 : Cartographie de la station de récolte des algues marines étudiées	08
Figure 03 : Photographie de la station de récolte (EL'ach El Baz) (Bejaïa).....	08
Figure 04 : Photographies des espèces d'algues marines récoltées.....	09
Figure 05 : Fonctionnement du system ASE.....	14
Figure 06 : Protocole d'extraction des composés actifs d'algues.....	15
Figure 07 : Les teneurs en polyphénols totaux des extraits d'algues étudiés.....	19
Figure 08 : Activité antibactérienne des différents extraits d'algues vis-à-vis de <i>E-coli</i>	21
Figure 09 : Activité antibactérienne des différents extraits d'algues vis-à-vis de <i>S.tiphy</i>	22
Figure 10 : Activité antibactérienne des différents extraits d'algues vis-à-vis de <i>V.cholerae</i>	23
Figure 11 : Activité antibactérienne des différents extraits d'algues vis-à-vis de <i>SARM</i>	23
Figure12 : Activité antibactérienne des différents extraits d'algues vis-à-vis de <i>B.subtilis</i>	24
Figure13 : Activité antibactérienne des différents extraits d'algues vis-à-vis de <i>L.innocua</i>	25
Figure14 : Photographie de zone d'inhibition de quelques extraits vis-à-vis de <i>E-coli</i>	30
Figure15 : Photographie de zone d'inhibition de quelques extraits vis-à-vis de <i>B.subtilis</i>	30
Figure16 : Photographie de zone d'inhibition de quelques extraits vis-à-vis de <i>L.innocua</i> ...	30
Figure17 : Photographie de zone d'inhibition de quelques extraits vis-à-vis de <i>V.cholerae</i>	31
Figure18 : Photographie de zone d'inhibition de quelques extraits vis-à-vis de <i>SARM</i>	31
Figure19 : Photographie de zone d'inhibition de quelques extraits vis-à-vis de <i>S.tiphy</i>	31
Figure 20 : Photographie de la microplaque des CMI.....	32

Liste des abréviations

AG : Acide gallique

ASE : Accelerated Solvant Extractor.

ATCC : American Type Culture Collection.

Aq : Aqueux

BP : Bromophénol.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

Eq : Equivalent

INCT : Institut National de Cartographie et de Télédétection.

PLE : Pressurized Liquid Extraction.

PSI : Pound per Square Inch

UFC : Unité Formant Colonie

UV : Ultra Violet



Sommaire

SOMMAIRE

Liste du tableau

Liste des figures

Liste de l'abréviation

Introduction.....	1
Revue bibliographique.....	2
I. Généralité.....	2
I.1. Définition.....	2
I.2. Classification.....	3
I.3. Composition biochimique.....	3
II. Extraction des composés actifs d'algues marines.....	4
III. Principales Utilisations.....	7

Chapitre II :Matériels et méthodes

II.1.Matériels.....	8
II.1.1. Matériel végétal	8
II.1.2 Les souches bactériennes.....	10
II.1.2.1.Préparation des inocula	12
II.2Methode.....	13
II.2.1.Préparation des extraits	13
II.2.2 Extraction des composés actifs.....	13
II.2.Dosage des poly phénols totaux	16
II.3.Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'algues	16
II.3.1. Réalisation des tests d'activité antibactérienne.....	16
II.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices sur milieu liquide (CMI).....	17
II.3.3. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB).....	17
II.3.4. Etude statistique.....	17

Chapitre III : Résultats et discussions

III. Résultats et discussions.....	19
III.1. Dosage des poly phénols totaux	19
III.2 Activité antibactérienne.....	21
III.2.1. Antibiogrammes	21
III.2.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB)	29
Conclusion.....	36

Références bibliographiques

Annexe



Introduction

Introduction :

Le milieu marin constitue la plus grande partie de la biosphère et contient les formes les plus anciennes et les plus variées de la vie. Plus de 500 000 espèces de plantes et d'animaux y ont été répertoriés. (*Guezennec & Debitus, 2006*).

La recherche sur les substances naturelles est un thème porteur depuis quelques années, les chercheurs se tournent de plus en plus vers l'identification et la caractérisation de molécules issues de matrices naturelles (*Fiorucci, 2006*), un grand intérêt pour les organismes marins est né, spécialement pour les algues (*Samarakoon et Jeon, 2012*)

Consommées depuis la nuit des temps en Asie, exploitées en médecine chinoise traditionnelle, utilisées au moyen âge par certaines populations littorales d'Europe et d'Amérique, (*Person, 2010 ; Liu et al., 2012*), les macro algues sont principalement utilisées dans l'alimentation humaine au niveau mondial, et sont considérées comme de grande utilité pour de nombreuses productions industrielles (*Person, 2010, Anantharaman et al., 2008*).

Les algues marines sont connues pour synthétiser une grande variété de métabolites secondaires chimiquement, et biologiquement actifs (*Chater Riahi et al., 2011*), utilisés pour la défense contre les organismes prédateurs ou colonisateurs (*Younes et al., 2009; EL Hassouni et al., 2013*), ces métabolites montrent des propriétés antibactériennes, antifongiques ; anti-inflammatoires, (*Salvador et al., 2009*), , antivirales, (*Chbani et al., 2011 ; Chatter Riahi et al., 2011*), anticoagulantes (*Devanya et al., 2012 ; Freitas et al., 2012*), antioxydantes (*Dai-hung et al., 2011 ; Se-Kwon et Isuru, 2010*) anti tumorales et anti diarrhéiques, (*Kolanjinathan et al., 2009*) cytotoxiques, (*Vo et al., 2012 ; Al-Saif et al., 2014*) qui peuvent être utilisées comme ingrédient fonctionnel en alimentaire ou comme produit pharmacologique ou biotechnologique (*Klejdus et al., 2009*).

Revue bibliographique

I. Généralité

I.1.Définition :

Les algues sont des organismes photosynthétiques pluricellulaires (Gayral, 1975), représentant un groupe hétérogène de plantes, très distinctes les unes des autres n'ayant que peu de caractères en commun, (Iltis, 1980) connues comme étant une source d'alimentation saine (Sung-hwam et al., 2012). Elles sont classées parmi les cryptogames, dans le vaste groupe des thallophytes, vue leur organisation rudimentaire (Manneville et al., 2009 ; Person, 2010).

Elles possèdent un appareil végétatif peu évolué, sans racines, ni tiges, ni feuilles, ni vaisseaux conducteurs (Diaz-paulido et McCook, 2008 ; Arunachalam et al., 2014), la majorité se compose d'un crampon, d'une fronde, et certaines possèdent un stipe (devaney et al., 2012) (Figure1), elles se nourrissent à travers un processus d'osmose (Gupta et al., 2011).

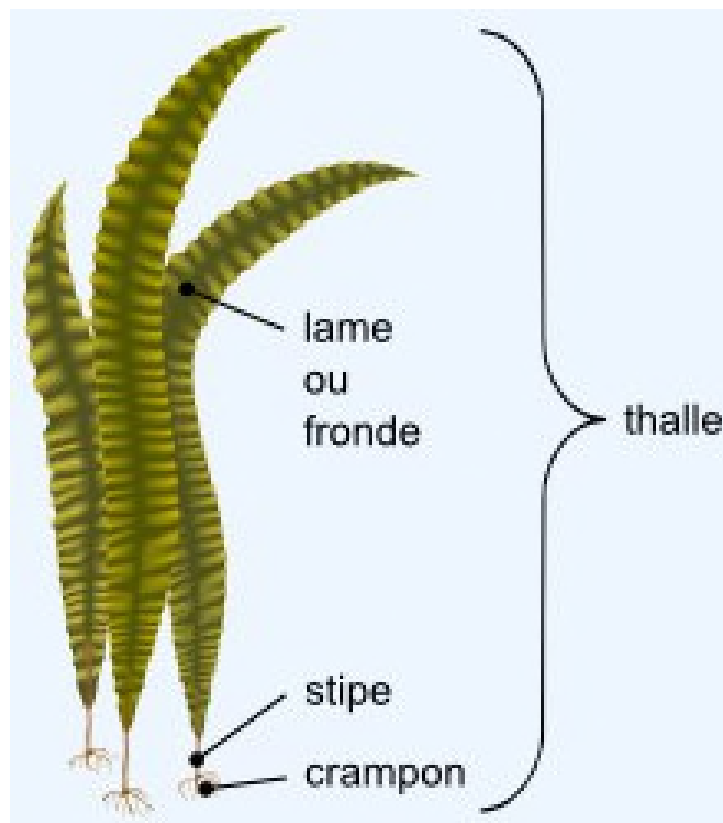


Figure 01 : appareil végétatif des algues marines

Les algues sont des végétaux aquatiques considérées comme étant des organismes inféodés aux zones humides (eaux marines, saumâtres, et douces) (De Riviers, 2002), allant jusqu'à 180 mètres de profondeur (Anantharaman et al., 2008 ; Manneville, 2009 ; Adaikaraj et al., 2012), ou elles jouent un rôle primordial dans le maintien de l'équilibre écologique du milieu aquatique (Riadi, 1998). La présence de chlorophylle est l'une des particularités commune pour toute les algues (De Riviers, 2002 ; Manneville, 2009).

I.2. Classification :

Elles sont classées en trois grandes divisions : les Chlorophyta : algues vertes, les Rhodophyta : algues rouges, et les Phaeophyte : algues brunes (Demoulain et Leymergie, 2009 ; Farid et al., 2009 ; Person, 2010 ;, Adaikalaraj et al., 2012), et ce selon leur composition chimique et pigmentaire (Subba Rao et al, 2009 ; Gupta et al., 2011). Le Tableau I ci-dessous représente les pigments correspondants à chaque division d'algues.

Tableau I : Les pigments correspondants aux trois divisions d'algues. (Nicklin et al., 2000 ; De Reviere, 2002 ; Davis et al., 2003 ; Manneville, 2009)

DIVISIONS	pigments	Pigment responsable de la coloration
Chlorophyta : algue verte	Chlorophylle a, b ; α , β -carotène ; xanthophylles	Chlorophylles
Phaeophyta : algue brune	Chlorophylle a, c ; β -carotène ; Fucoxanthine et autres xanthophylles	Fucoxantine et xanthophylles
Rhodophyta : algue rouge	B-phycoérythrine ; α , β -carotène ; xanthophylles	Phycoérythrines

I.3. Composition biochimique :

L'intérêt des macro algues s'explique par la présence de 3 catégories de composants : fibres, protéines et minéraux ; mais aussi de métabolites avec des propriétés antimicrobiennes

(Helillo *et al.*, 2001 ; Yeon-Hee *et al.*, 2013 ; Al-Saif *et al.*, 2014), antifongiques, anti-inflammatoires (Chiheb *et al.*, 2011 ; El Hassouni *et al.*, 2013) anti tumorales ,

antivirales,(Chbani *et al.*, 2009), anti oxydantes, (Bhagavathy *et al.*, 2011 ; El Hassouni *et al.*, 2013), tel que les caroténoïdes, fucoxantine, vitamines A, B1, B12, C, D, E, acide folique, niacine, riboflavine, acide pantothénique (Gupta *et al.*, 2011), contrairement aux plantes terrestres ou les vitamines B12,B3 et B2 sont inexistantes, on trouve aussi des polyphénols tels que ; les phlorotannins, les flavonoïdes (catéchines), (Demoulain *et Leymergie*, 2009), une forte richesse en Oligo-éléments et minéraux tels que : le sodium, le calcium, le phosphore (Gupta *et al.*, 2011 ; Person, 2010 ; Jirge and Chaudhari, 2010), et une richesse exceptionnelle en iode , qui serait un apport intéressant pour les personnes carencées (Demoulain *et Leymergie*, 2009).Le tableau II résume les différents composés bioactifs des algues et leurs activités prouvées.

II. Extraction des composés actifs d'algues marines :

Afin de se protéger des conditions externes (rayonnement UV...), les algues ont la capacité de produire des métabolites secondaires caractérisés par un large spectre d'activité biologique, inexistantes chez les autres organismes terrestres (Eom *et al.*, 2012 ; Wijensinghe *et You-jin*, 2012 ; Arhuldason *et al.*, 2013). Beaucoup de recherches ont envisagé la possibilité que les algues (macro et micro algues) peuvent être une source potentielle de composés bioactifs.

L'extraction de composés bioactifs doit être faite selon des procédures appropriées, sélectives, rentables, efficaces et respectueuses de l'environnement, avec des exigences légales quant à l'utilisation de solvants respectant la qualité alimentaire (Ibanez *et al.*, 2012).

Les techniques d'extraction traditionnelles telles que: extraction au Soxhlet, l'extraction solide-liquide (SLE), et l'extraction liquide-liquide (LLE), nécessitent beaucoup de temps, de grandes quantités d'échantillons et de solvants organiques, qui souvent ont un impact négatif sur l'environnement et la santé humaine, en plus de leur coût et de leur non automatisation (Salgueiro-González *et al.*, 2012 ; Ibanez *et al.*, 2012 ; Yuliana *et al.*, 2012).

Les techniques d'extraction modernes telles que : l'extraction par fluides super critiques (SFE), ou la technique d'extraction en phase solide, extraction assistée par ultrason

(UAE), (Maciaz-sanchez et al., 2009) extraction de liquide sous pression (PLE), sont fréquemment employées pour l'extraction de composés actifs tels que les saccharides, les

pigments naturels, les vitamines et acides aminés à partir d'algues (Klejdus et al., 2009 ; Onofrejova et al., 2010), les solvants tels que l'éthanol et l'eau sont généralement choisis, car leur utilisation est autorisée en industrie alimentaire, contrairement au autres solvants conventionnels tel que le toluène, l'hexane, le chloroforme qui sont dangereux pour l'environnement et la santé (Ya fang et al., 2011).

La PLE est une technique d'extraction qui combine une pression et une température élevées avec un solvant liquide pour obtenir une extraction rapide et efficace du composant ciblé (Carabias-Martínez et al., 2005), ceci améliore efficacement le rendement d'extraction, ces deux critères améliorent le contact de l'analyte avec le solvant, et facilite sa pénétration dans les pores de la matrice (Mustafa et al., 2012)

La PLE est considérée comme étant une méthode d'extraction verte (Ya fang et al., 2011) rapide et automatique, elle implique l'extraction d'échantillon dans un environnement sans lumière ni oxygène, (Santoyo et al., 2009). Ces facteurs peuvent être avantageux pour l'extraction de composés actifs. (Mustafa et al., 2011).

Tableau II : les différents composés bioactifs des algues et leurs activités prouvées

division	espèces	Composée bioactif	Propriété	Références
Chlorophyta	<i>Ulva lactuca</i>	Polysaccharide	Anti. Inflammatoire Cytotoxique et antimicrobienne	
	<i>Halmida lamouroux</i>	Diterpènetrialdehyde		
	<i>Halimeda tuna</i>	Diterpene aldehyde (Halitunal)	Antivirale	
	Chondria oppositoclada	sesquiterpènes (cycloeudesmol)	Antimicrobienne	
Rhodophyta	<i>Portieria hornemanii</i>	Terpène (Monoterpène halogéné)	Antitumoral	El Gamal, 2010.
	<i>Gigartina tenella</i>	Sulfolipide (Sulquinovasyll diacyl glycérol)	Antiviral	
	<i>Vidalia obtusaloba</i>	bromophenol (Vidalols A et B)	Anti- inflammatoire	
	<i>Laurencia brogniartii</i>	indol polybromé	Antimicrobienne (<i>B.subtilis</i>)	
phaeophyta	<i>F.evaensnesc</i>	Fucoïdan(Galactofucane)	Antitutatiqueoral et antimetasa	Alekseyenko et al., 2007
	<i>U.pinnatifida</i>	Polysaccharide sulphaté (Galactofucane)	Antiviral	Kim et al., 2006
	<i>E.arborea</i>	Phlorotannin (<i>Phlorofucofaroeckol-B</i>)	Antiallergique	Sugiura et al., 2007

III. Principales Utilisations :

Les algues sont déjà utilisées dans de nombreux domaines, en fonction des espèces, (Marfing et al., 2011), principalement dans l'industrie agro-alimentaire, la chimie, la microbiologie, (Mesnildrey et al., 2012), la cosmétologie (Dabouineau, 2004), l'agriculture (Abrousse-bastide, 2006), et dans le secteur pharmaceutique (Dhargalkar et Pareira, 2005). Et ce du fait de leurs propriétés texturantes, gélifiantes, épaississantes, émulsifiantes et stabilisantes (agar, alginate, carraghénane) (Pérez, 1997 ; Mac Hugh, 2003 ; Guezennec et Debitus, 2006 ; Marfing et al., 2011 ; Mesnildrey et al., 2012).

Depuis peu elles sont considérées comme des aliments fonctionnels c'est à dire qui contiennent des composés biologiquement actifs pouvant améliorer la santé ou réduire le risque de maladies, (Santoso et al., 2004 ; Plaza et al., 2008 ; Santoyo et al., 2009 ; Mendis et kim, 2011).

Les additifs alimentaires jouent aujourd'hui un rôle important dans le maintien des qualités et des caractéristiques de l'aliment exigés par le consommateur car les produits alimentaires sont soumis à beaucoup de conditions environnementales telles que l'oxydation et l'exposition bactérienne, qui peuvent altérer le produit et modifier leur composition originale (FAO/OMS, 1964 ; Gouget, 2008).

En industrie alimentaire beaucoup d'additifs synthétiques sont employés de par leur rôle antioxydant tels que hydroxyanisole butylé (BHA) (E 320) et hydroxytoluène butyle (BHT) (E 321), (Farag et al., 1989) ou ayant un rôle d'agent conservateur antimicrobien tel que les sulfates et les sulfites, les nitrates et les nitrites, (Van de Weghe, 2012), ces substances synthétiques sont toxiques causant des dommages au foie, l'altération des activités enzymatiques et peuvent être cancérigènes (Gulcin et al., 2002). Ainsi il est important de trouver de nouvelles substances conservatrices d'origine naturelle efficaces et sûres. (Li et al., 2007).

L'utilisation des algues ou leur extraits (en considérant leurs diverses propriétés) comme Bioconservateur alimentaire pour remplacer les conservateurs chimiques, dont beaucoup d'études ont prouvé leurs effets néfastes sur la santé, paraît être une thèse très prometteuse. Notre étude a pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et aqueux de quatre espèces d'algues (Brune, Verte et Rouge) et de déterminer leur effet inhibiteur pour une éventuelle application en industrie alimentaire. Parmi les trois

types d'algues (brune, verte, et rouge) quelles sont celle qui possèdent le plus d'activité antibactérienne ? Il y a-t-il une différence entre la susceptibilité des souches à Gram positif et a Gram négatif ? Il y a-t-il une corrélation entre la teneur en poly phénols totaux présent dans nos extraits avec l'effet inhibiteur exercé ?

Matériels et Méthodes

II. Matériels et Méthodes

II.1. Matériels

II.1.1. Matériel végétal

Les algues marines faisant l'objet de cette étude sont au nombre de quatre. Deux Chlorophycophytes (*Ulva intestinalis* et *Ulva lactuca*), une Phéophycophyte (*Halopteris scoparia*) et un Rhodophycée (*Ceramium virgatum*). Ce sont des algues très communes sur les côtes méditerranéennes.

La récolte des différentes espèces algales s'est effectuée dans différents sites, et ce durant le mois de Mai 2012, les algues verte et rouge on été collectées au niveau de la plage dite EL'ach El-bez, tandis que les la collecte des algues brunes s'est effectué dans trois endroits différents, dont la plage EL'ach El-bez, Boulimate, et Backster, située à environ 22 Km à l'ouest de la ville de Bejaïa, (36° 49'58,06 N, 4° 58' 05,17'' E) (figure 2). C'est une station caractérisée par un substrat rocheux et un environnement moyennement battu et calme (Figure 3). La température de l'eau le jour de la récolte était de 17°C. Les échantillons ont été transportés au laboratoire dans des sacs de polyéthylène opaques. Ces algues ont été identifiées au niveau du laboratoire de cryptogamie à l'université Abderrahmane Mira de Bejaïa (UAMB). Les photographies des espèces d'algues marines récoltées sont présentées dans la figure 04, avec une description de chaque espèce dans le Tableau III.

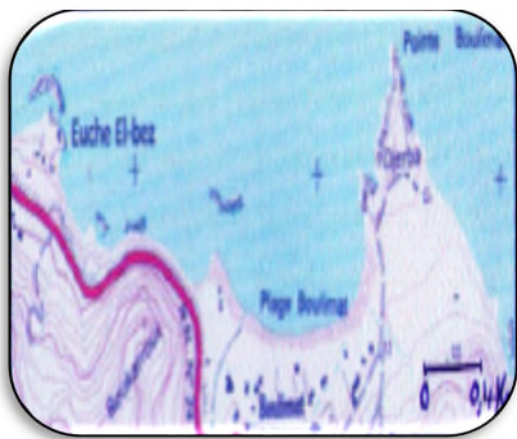


Figure 02 : Cartographie de la station de récolte des algues marines étudiées (INCT, 2000).



Figure 03 : Photographie de la station de récolte (EL'ach El Baz) (Bejaïa)

Tableau III: Caractéristiques botaniques des espèces d'algues marines récoltées.

Figure04: Photographies des espèces d'algues marines récoltées.	Description (Cabioc'h et al, 1992; Wynne	Classification et Shneider, 2010)
 <p><i>Ulva lactuca</i></p>	<p>Algue verte avec un thalle en formes foliacées irrégulières, quelques fois lobées et découpées, à consistance relativement ferme, composées de deux couches de cellules accolées, et fixées au substrat par un petit disque.</p>	<p>Règne: <i>Plantae</i> Division: <i>Chlorophyta</i> Classe: <i>Ulvophyceae</i> Ordre: <i>Ulvales</i> Famille: <i>Ulvacées</i> Genre: <i>Ulva</i></p>
 <p><i>Ulva intestinalis</i></p>	<p>Algue verte avec un thalle en forme de tubes, plus ou moins ramifiés, aplatis et parfois rubanés, Tube creux formé d'une seule couche de cellules.</p>	<p>Règne: <i>Plantae</i> Division: <i>Chlorophyta</i> Classe: <i>Ulvophyceae</i> Ordre: <i>Ulvales</i> Famille: <i>Ulvacées</i> Genre: <i>Ulva</i></p>
 <p><i>Halopteris scoparia</i></p>	<p><i>Halopteris</i> est une Algue brune avec un thalle arbustif à axe segmenté et souvent ramifié possède de nombreux ramoules disposés radialement, rugueux. La croissance du thalle se fait à partir d'une grosse cellule appelée sphacèle et leur fixation se fait par les rhizoïdes.</p>	<p>Régne : <i>Plantae</i> Division: <i>Pheophyta</i> Classe: <i>Peophyceae</i> Ordre: <i>Sphacelariales</i> Famille: <i>Stypocaulonacée</i> Genre: <i>Halopteris</i></p>
 <p><i>Ceramium virgatum</i></p>	<p>Algue rouge avec un thalle filamenteux, à axe monosiphoné irrégulièrement ramifié, leur développement n'excède pas 30 cm de longueur. L'apex fourchu de leurs filaments forme deux pointes caractéristiques, en forme de cornes ou de pinces.</p>	<p>Regne : <i>plantae</i> Division : <i>Rhodophyta</i> Classe <i>Rhodophyceae</i> Ordre : <i>Ceramiales</i> Famille : <i>Ceramiales</i> Genre : <i>Ceramium</i></p>

II.1.2 Les souches microbiennes :

Les germes qui ont fait l'objet des tests antibactériens sont souvent rencontrés en pathologie humaine. Le Tableau IV illustre les différentes souches bactériennes utilisées

Tableau IV: Souches bactériennes utilisées

Souches	Références
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>SARM</i>	ATCC 43300
<i>Salmonella tiphy</i>	ATCC 13311
<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC 14035
<i>Listeria innocua</i>	CLIP 74915

ATCC: Américain Type Culture Collection.

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline

II.1.2.1. Préparation des inocula :

L'activité de tout agent antimicrobien dépend de la densité de la suspension cellulaire de la souche cible utilisée, d'où la nécessité de standardiser l'inoculum bactérien, pour cela, Les souches bactériennes ont été ré-isolées sur gélose nutritive.

A partir de souche jeune (18 à 24h) un prélèvement de colonies est effectué, et disposé dans 5ml d'eau physiologique. La standardisation a été effectuée en se basant sur un nombre et un type de colonie précis, le nombre de colonies prélevés pour chaque souche est comme suit :

- *B.subtilis* 06 colonies moyennes.
- SARM 07 petites colonies.
- *E.coli* 07 colonies moyennes.
- *L.innocua* 8 colonies moyennes.
- *S.typhi* et *V.cholerea* 08 colonies moyennes.

Une série de dilutions décimales est réalisé dans de l'eau physiologique stérile (10^{-1} à 10^{-9}), un volume de 1ml est prélevé de chaque dilution et, est ensemencé en masse sur gélose nutritive (2 boites), Après incubation à 37°C pendant 24h, un dénombrement est réalisé. La concentration bactérienne en UFC/ml est obtenue par l'application de la loi suivante :

$$N = \frac{\sum C}{(V \times 1,1d)}$$

$\sum C$	Somme des colonies comptées sur les deux boites retenues
V	Volume de l'inoculum (1 mL dans la masse/0,1 mL en surface)
d	Dilution correspondant à la première boite retenue, avec l'inoculum le moins dilué

II.2METHODE

II.2.1.Préparation des extraits :

Les algues récoltés ont été nettoyés par lavage avec de l'eau douce afin d'éliminer les épiphytes, les nématodes et toute autre matière attaché qui pourrait influencer l'évaluation des activités biologiques, et les crampons sont retirés. Un dernier lavage avec de l'eau distillée a été effectué. Les échantillons ont été par la suite séchés à température ambiante et à l'obscurité pendant environ un mois. Après le séchage, le matériel végétal destiné à l'extraction des composés actifs est broyé tout d'abord à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir un échantillon grossièrement broyé, puis un broyage cryogénique ou « cryobroyage » est effectué.

Le cryobroyage consiste à pulvériser l'algue sèche en la broyant à froid sous azote liquide, à -196°C ; la poudre que l'on recueille ainsi est parfaitement fine et homogène: c'est ce qu'on appelle la poudre totale ou « totum ». Cette technique, très performante, permet de transformer les plantes en poudre tout en préservant l'intégralité de leurs composants actifs. Les poudres sont mises dans des flacons opaques et conservées dans un endroit sec.

La finalité de cette étape est de mettre au point une poudre végétale qui permet l'extraction de taux importants de composés actifs, doués de toutes leurs activités biologiques.

II.2.2 Extraction des composés actifs :

L'extraction des composés actifs est effectuée en utilisant l'extraction par fluides pressurisés, un système entièrement automatisé : ASE 200 (extraction accélérée par solvant), donc en utilisant un solvant accéléré équipé d'une unité de solvant contrôleur (**Ya fang et al., 2011**).

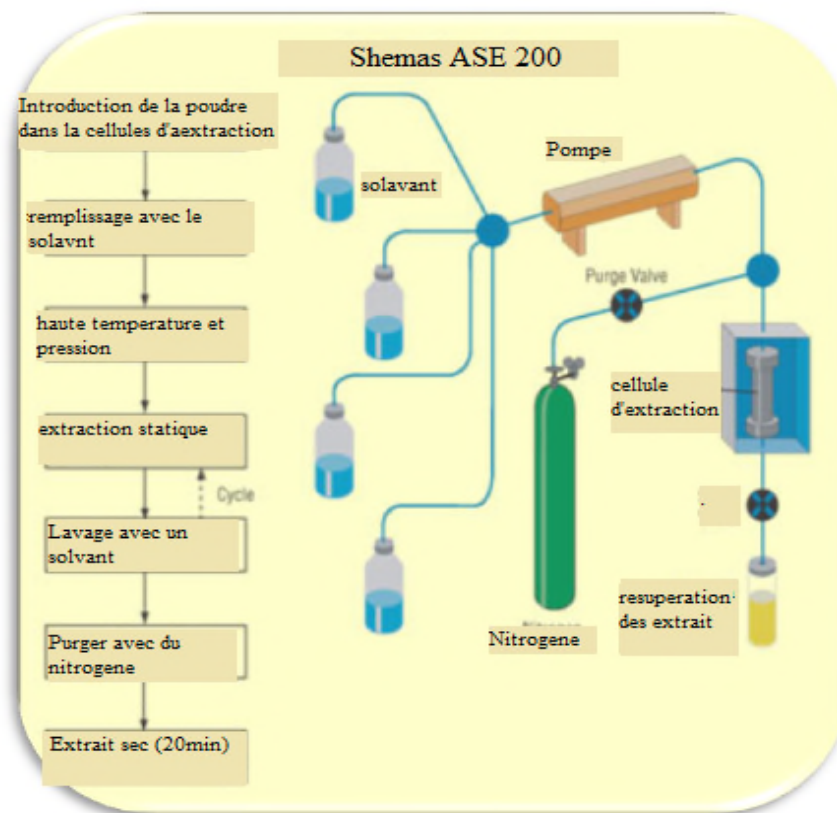
La poudre d'algues est introduite dans la cellule d'extraction ASE, celle-ci va automatiquement procéder à l'extraction par solvant, tout d'abord La cellule est remplie de solvant, Dans notre cas, les solvants utilisés sont : éthanol /Eau (75/ 25) et l'eau 100%, puis elle est chauffée et mise sous pression, l'échantillon est maintenu à une pression de **1500psi** et en utilisant deux températures différentes. Les conditions d'extraction sont représentées dans le Tableau VI, la figure 05 démontre le fonctionnement du system ASE.

Tableau VI : les conditions de l'extraction accélérée par solvant (ASE)

SOLVANT	Température d'extraction (°C)	PRESSION (psi)	Temps d'extraction (min)
Ethanol/Eau	120	1500	20
EAU	25	1500	20

Le séchage des extraits EAU (100%) est effectué par une lyophilisation, tandis que le séchage de l'extrait éthanol/eau (75/25) subit d'abord une évaporation à l'aide d'un Rotavapor, puis une lyophilisation.

La reconstitution des extraits secs de chaque solvant est effectuée à une concentration 10mg/ml et 50mg/ml respectivement pour les extraits éthanoliques et aqueux. Les extraits obtenus sont conservés à l'obscurité dans des flacons fumés à 4°C jusqu'à utilisation ultérieure.

**Figure 05:** Fonctionnement du système ASE.

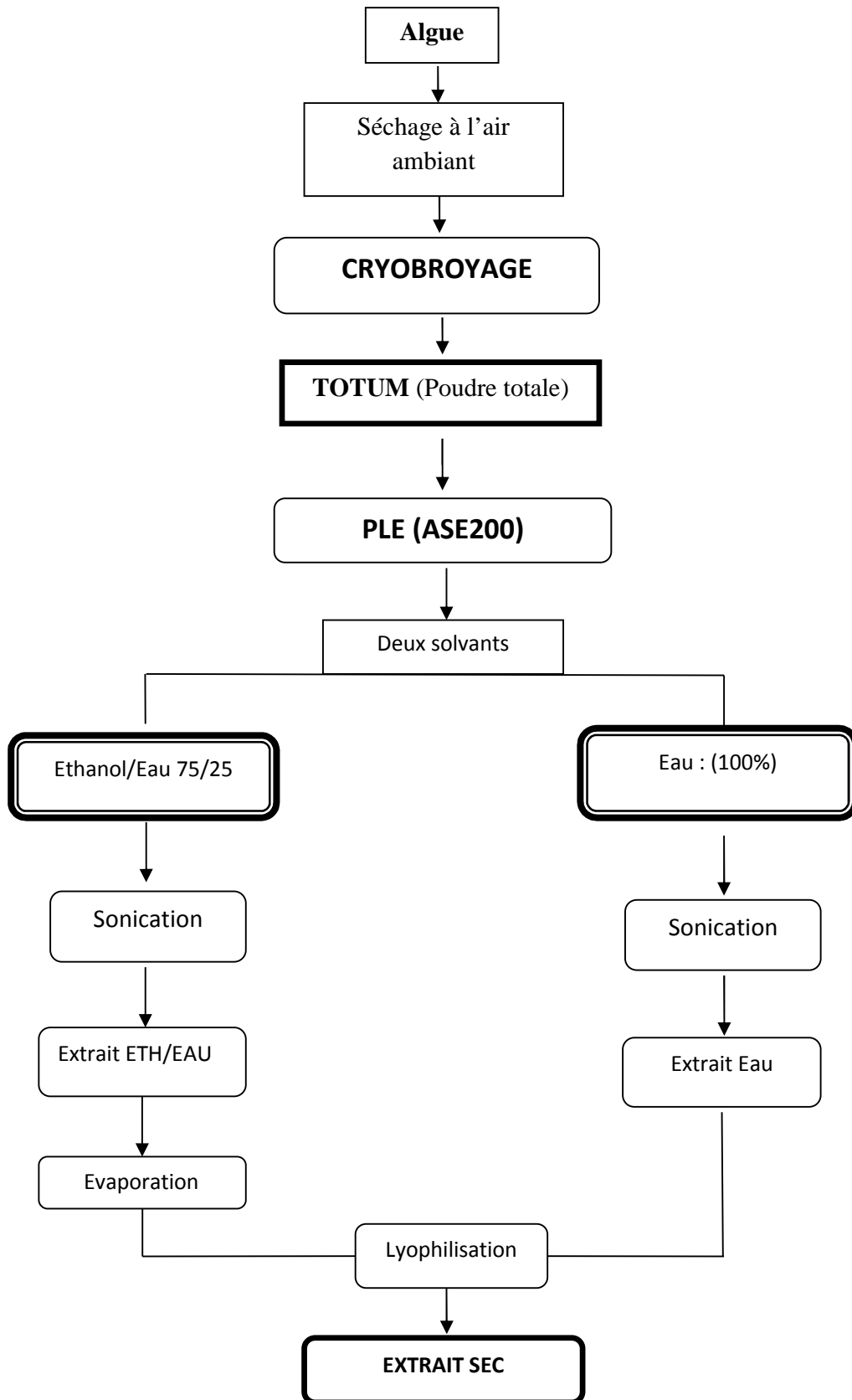


Figure 06 : Protocole d'extraction des composés actifs d'algues

II.2. Dosage des poly phénols totaux :

La teneur des composés phénoliques totaux des extraits d'algues préparés ci-dessus, est déterminée par une méthode spectrophotométrique. Elle est basée sur la réaction des composés phénoliques avec le réactif de folin-ciocalteu, ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique $H_3PMO_{12}O_{40}$, il est réduit lors de l'oxydation des phénol en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène, la couleur dépend du nombre de groupement hydroxyle et de leur position dans les molécules ; La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présent dans les extraits végétaux (**Ribereau-Gayron et al., 1998**).

Dans un tube eppendorf on ajoute 0.6ml d'eau distillé, 10ul d'extrait, puis 50ul d'une solution de Folin-Ciocalteu, après une minute, 150ul d'une solution de carbonate de sodium à 20% sont ajoutés, le volume est ajuster en additionnant 190ul d'eau distillé. Ce mélange est laissé à l'obscurité pendant deux heures à température ambiante. Des mesures d'absorbance sont enregistrées à 760nm en utilisant un spectrophotomètre (**Kosar et al., 2005**).

II.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'algues :

II.3.1. Réalisation des tests d'activité antibactérienne

Les activités antibactériennes des différents extraits phénoliques ont été déterminées par la technique de diffusion sur gélose Mueller-Hinton. Le mode opératoire utilisé est celui décrit par **Younes et al., (2009)** modifiée. Le milieu gélosés Mueller-Hinton a étéensemencé par écouvillonnage par des inocula bactériens standardisés (10^8 UFC/ml). Des disques stériles de papier filtre ayant un diamètre de 3mm ont été déposés aseptiquement sur la géloseensemencée et ont été immédiatement imprégnés par une quantité d'extraits d'algues de 20 μ l ayant une concentration, 10mg/ml et 50mg/ml. Le solvant de reconstitution a été utilisé comme témoin négatif.

II.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices sur milieu liquide (CMI) :

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

La détermination des CMI des extraits des algues étudiées vis-à-vis des six souches testées précédemment est réalisée selon la technique de microdilution sur microplaques stériles, tel que recommandé par le Comité national pour les Normes de Laboratoire Cliniques (NCCLS, 1999) avec quelques modifications. La procédure est comme suit :

- 165µl de bouillon Muller-Hinton additionné de 0,2% de Tween 20.
- 30 µl des différentes concentrations des extraits
- Chaque puits est ensuiteensemencé par 5µl de la suspension bactérienne de densité 10^8 UFC/ml.
- Les microplaques sont incubées à 37 °C pendant 18 h.

Dans ce test, deux témoins sont réalisés :

- ✓ Témoin négatif : 165 µl de bouillon Muller-Hinton + 30 µl de l'extrait + 5µl de bouillon stérile.
- ✓ Témoin positif : 165 µl de bouillon Muller-Hinton + 30 ul du solvant + 5µl de l'inoculum.

La CMI de chaque extrait a été déterminée visuellement par l'absence de formation d'un culot bactérien blanc au fond du puit. (Santoyo et al., 2009).

II.3.3. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)

Des boîtes de Petri sont coulées par de la gélose nutritive et sontensemencées à partir des premiers puits ou aucune croissance n'est observée. Après incubation à 37°C pendant 24h, une présence de la croissance ou non est mentionnée. La CMB correspond à la plus petite concentration aboutissant à une destruction notable des bactéries (0.01 de survivant) (Meyer et al., 1994).

II.3.4. Etude statistique

Toutes les données de la présente étude sont représentées sous forme de moyennes de trois essais. Nous avons comparé les résultats obtenus lors de ce travail en utilisant des tests de comparaison des moyennes ANOVA à l'aide de logiciel STATISTICA 5.5. Des différences significatives ($p < 0,05$) entre les moyennes sont déterminées par le test LSD (Low Signifiant Différence).

Résultats et Discussion

III. Résultats et discussion :

Dans cette étude, des extraits de quatre espèces d'algue marines (*Ulva lactuca*, *Ulva intestinalis*, *Halopteris scoparium*, *ceranium virgatum*) obtenus par PLE, sont testés vis-à-vis de six bactéries par le test des disques (trois Gram positif, et trois Gram négatif).

III.1. Dosage des polyphénols totaux :

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits éthanolique et aqueux, des quatre espèces d'algues marines étudiées sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg Eq AG/g), sont représentées dans la figure 07 :

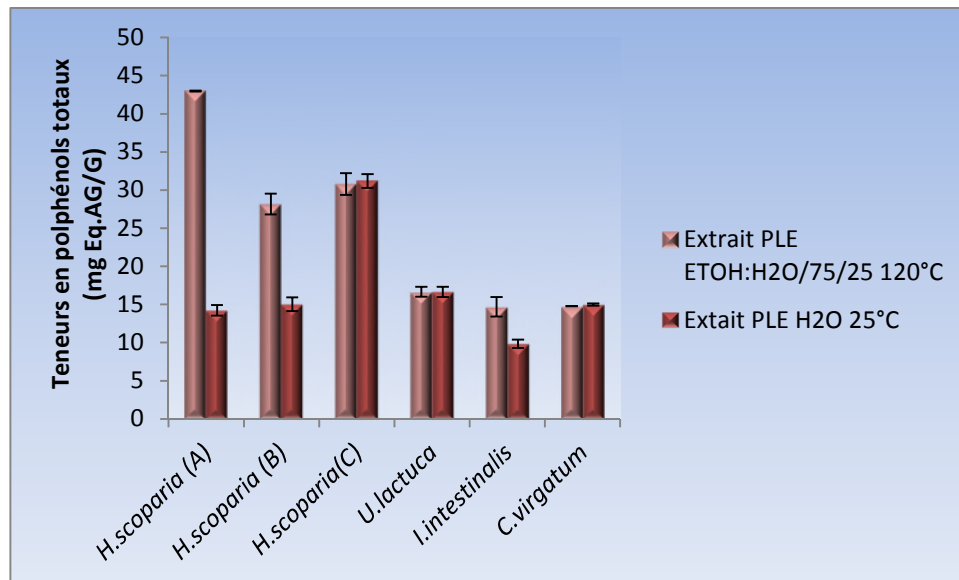


Figure 07 : Les teneurs en polyphénols totaux des extraits d'algues étudiés

Des teneurs élevées en composés phénoliques sont obtenues par les extraits Ethanol/Eau et ce des différents extraits d'algues brunes *Halopteris scoparia*, ceci dit, le taux de polyphénols diffère chez la même espèce algale, l'extrait (A) d' *Halopteris scoparia*, s'est révélé être le plus riche en phénol (42.97mg Eq. AG/g), suivi de l'extrait (C) (30.79 mg Eq. AG/g), l'extrait (B) se montre le moins riche des trois avec un taux de 28.16 mg Eq. AG/g d'extrait.

On constate une légère différence entre la teneur en composés phénoliques des deux extraits d'algue verte *U.lactuca*, et *U.intestinalis* avec celui de l'algues rouge *C.virgatum*, cependant *U.lactuca* se montre la plus riche en phénols des trois, nous notons aussi que la plus faible

teneur en composés phénoliques est obtenue par l'algue verte *U.intestinalis* avec un taux égal à 14.70 mg Eq. AG/g de poudre.

Les teneurs en composés phénoliques des extraits aqueux obtenus pour la même espèce algale *H.scoparia* (A) et *H.scoparia* (B), diffèrent significativement de celles obtenues par les extraits Ethanol/Eau, par contre on note une légère différence pour les extraits de *U.intestinalis*, *C.virgatum* et *H.scoparia* (C), et une similitude pour les teneurs en phénols de l'algue *U.lactuca* concernant ces deux solvants.

Des teneurs en composés phénoliques inférieurs aux résultats obtenus pour les différents extraits de l'espèce *H.scoparia* (A, B., C) ont été enregistrés par **chandini et al. (2008)** pour l'extrait méthanolique de l'algue brune *turbinaria conoides* avec un taux de 29.01 mg Eq. AG/g, aussi **Benguedour et al. (2013)** ont enregistré des teneurs en polyphénols totaux pour les extraits méthanoliques de l'algue rouge *Gelidium sesquipedal* inférieurs à celles que nous avons obtenues, avec un taux de 8.71 ± 6.1 mg Eq. AG/g, cela pourrait s'expliquer par le type de solvant utilisé, car **Calliste et al. (2001)** ont rapporté que les composés phénoliques se répartissent dans les différents solvants selon leur polarité, dans notre cas les composés les plus polaires migreront vers l'eau et les moins polaires vers l'éthanol. Nous pouvons en déduire que l'extrait éthanolique est riche en composés moyennement polaires, et que l'extrait aqueux est riche en composés très polaires, d'où la teneur assez élevée en polyphénols totaux pour nos extraits.

Une étude a été effectuée concernant le taux de poly-phénols totaux de différentes espèces algales (brune, verte et rouge), par **Sabeena Farvin et Jacobsen. (2013)**, ces auteurs ont trouvé que la valeur en polyphénols totaux pour les deux extraits éthanoliques et aqueux de *U.lactuca* s'est avérée être très rapprochée avec 2.26 ± 0.07 mg Eq AG/g et 2.240.03 mg Eq AG/g respectivement, certes ce taux est inférieur au nôtre, mais les deux valeurs sont similaires ce qui est en accord avec nos résultats. Ces même auteurs ont aussi constaté que les deux algues brunes *Fucus senatus* et *fucus vesiculosus* présentent des teneurs en polyphénols totaux de 12 ± 0.09 mg Eq AG/g et 10.45 mg Eq AG/g respectivement, ceci est largement inférieur à nos résultats, et pourrait être dû à notre méthode d'extraction utilisée qui, assure une meilleure solubilité et contact entre le solvant et l'analyte à extraire et ce, à haute température, améliorant ainsi le rendement d'extraction. (**ibànez et al., 2012**).

L'étude de **Matanjun et al. (2008)** a révélé que les algues brunes et vertes sont les plus riches en composés phénoliques que les algues rouges. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans notre étude.

Toutes ces variations en teneurs des composés phénoliques peuvent être mises en relation avec les conditions environnementales du site ou les algues on été prélevées (salinité, lumière, nutriments) ainsi que par des facteurs liés à l'algue elle-même (type, âge) (**Zubia et al., 2007 ; Ganesan et al., 2011**), ceci expliquerait le résultat différent en composés phénoliques pour les trois extraits de *H.scoparia* (A,B,C), car nous rappelons qu'elles ont été récoltées sur des sites différents, donc L'exposition a la lumière n'était pas la même, la profondeur, température ainsi que la salinité étaient différentes, ce qui a affecté la teneur en polyphénols totaux.

III.2 Activité antibactérienne :

II.2.1. Antibiogrammes :

Les résultats des tests obtenus sont exprimés selon trois niveaux d'activité : résistant : $D < 8\text{mm}$, intermédiaire : $15\text{mm} \geq D \geq 8\text{mm}$ et sensible : $D > 15\text{mm}$ (**Bensemira et al., 2006**). L'activité antibactérienne des extraits des quatre espèces d'algues étudiées est représentée dans les figures 14, 15, 16, 17, 18, 19.

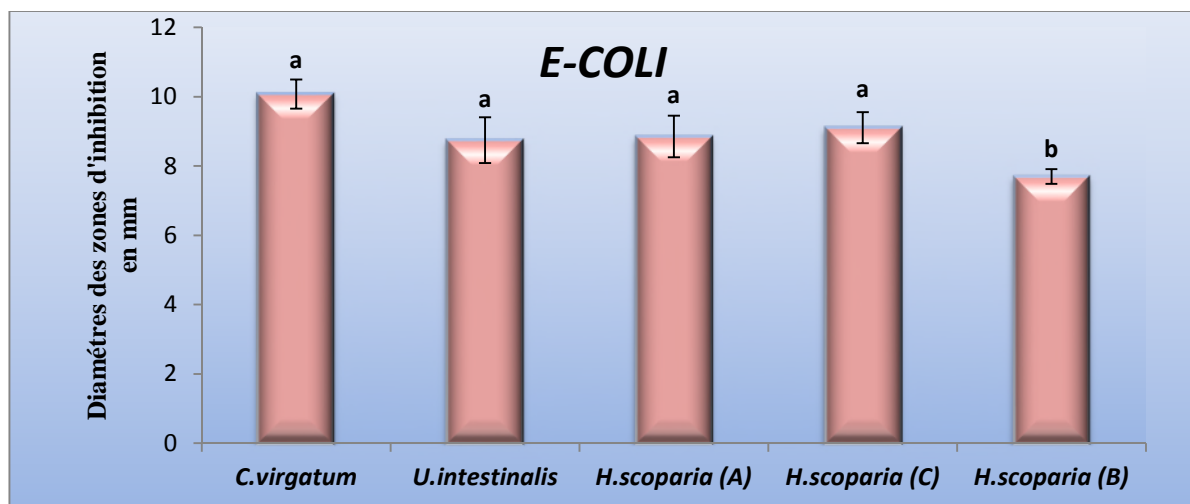


Figure 08: Activité antibactérienne des différents extraits d'algues vis-à-vis de *E-coli*

L'étude statistique a révélé une légère différence d'activité antibactérienne vis-à-vis de *E.coli*, pour les extraits de *C.virgatum*, *U.intestinalis*, *H.scoparia* (A) et *H.scoparia* (c). Le diamètre

d'inhibition le plus élevé est observé pour l'extrait de l'algue rouge *C.virgatum* avec 10,08 mm suivi de *H.scoparia* (C) avec 9,11mm puis *U.intestinalis* avec 8.75; et enfin 8,85mm pour *H.scoparia* (A). La plus faible zone d'inhibition est obtenue par *H.scoparia* (B), qui diffère significativement des autres extraits, avec un diamètre d'inhibition égal à 7,7mm ± 0,21. Nous constatons qu'aucune zone d'inhibition n'a été observée pour les extraits aqueux vis-à-vis *E-coli*.

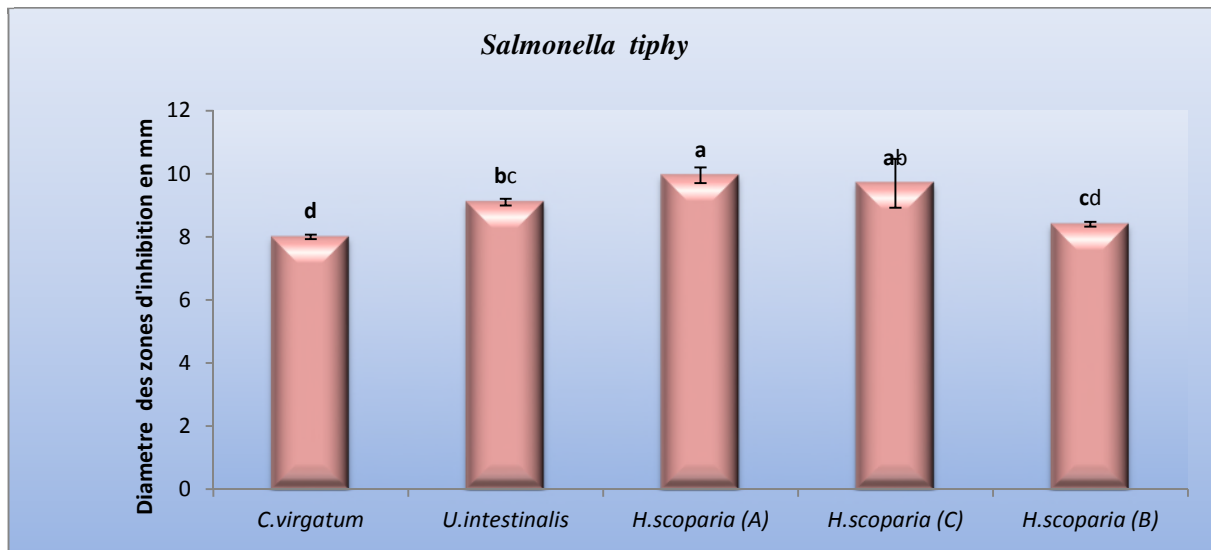


Figure 09 : Activité antibactérienne des différents extraits d'algues vis-à-vis de *S.tiphy*

L'étude statistique a révélé une différence significative ($p < 0.05$) vis-à-vis de *S.tiphy*, l'extrait de *H.scopatia* (A) a donné le meilleur effet inhibiteur à l'encontre de cette souche, suivi de *H.scoparia* (c), *Ulva intestinalis*, et *H.scoparia* (B); de faibles effets antibactériens sont fournis par l'extrait 1, et aucune zone d'inhibition n'a été observée pour les extrait aqueux de ces même algues.

D'après les résultats obtenus nous avons constaté que la souche *S.tiphy* possède une sensibilité modérée envers les différents extraits d'espèce d'algue ; nous notons que *H.scoparia* (A) possède le plus grand diamètre d'inhibition, qui est égal à 9.95mm ± 0.25.

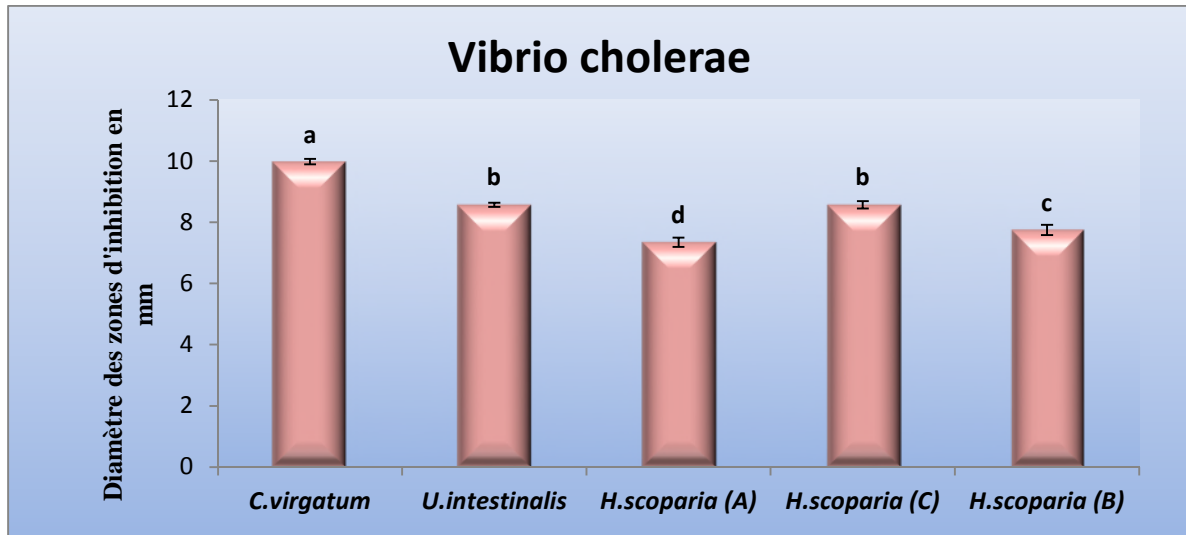


Figure 10 : Activité antibactérienne des différents extraits d’algues vis-à-vis de *V.cholerae*

L’étude statistique a révélé une différence significative ($p < 0,05$) entre les différents extraits d’algues vis a vis de la souche *V.cholerea*, les tests antibactériens effectués sur cette souche ont donné différentes zones d’inhibition, le plus grand a été obtenu pour *C.virgatum* avec un diamètre de zones d’inhibition de $9.98\text{mm} \pm 0.09$. Un faible effet antibactérien a été constaté pour *H.scoparia* (A), avec un diamètre de zones d’inhibition inférieur à 8mm, nous notons que les extraits aqueux n’ont eu aucun effet antibactérien.

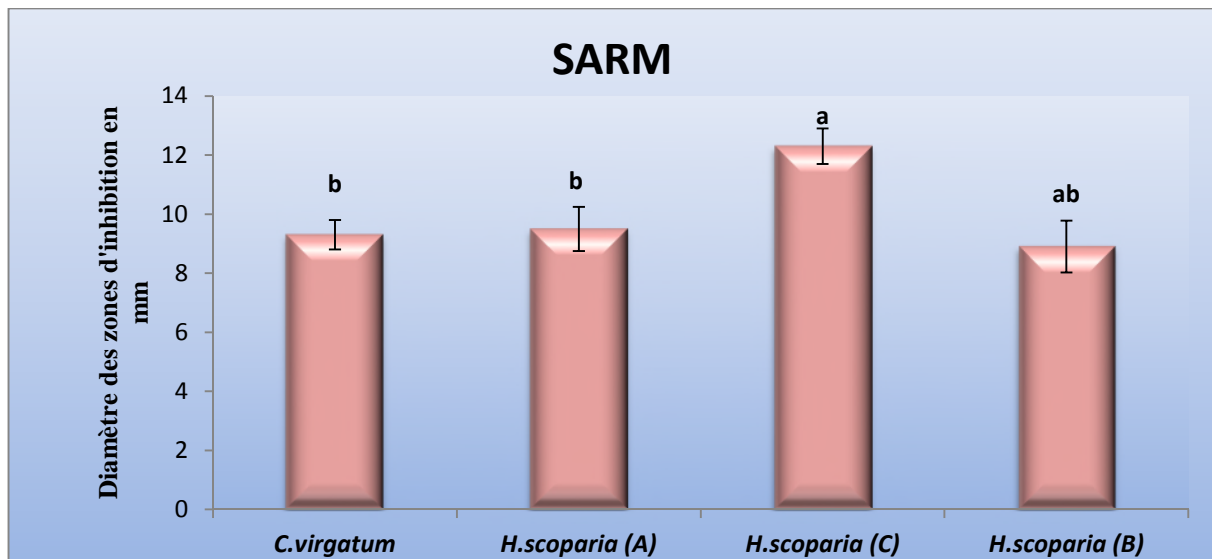


Figure 11 : Activité antibactérienne des différents extraits d’algues vis-à-vis de SARM

La figure 11 indique que quatre extraits de différentes algues sur dix, ont un effet inhibiteur sur SARM. Des zones d’inhibition de 9.3mm à 12.3mm on été observées, la zone d’inhibition la plus élevée a été obtenue par *H.scoparia* (C), qui diffère significativement des autres extraits,

avec un diamètre égale a 12.3 ± 0.6 . Nous avons aussi constaté qu'aucune zone n'a été observée pour les extraits aqueux des différentes algues.

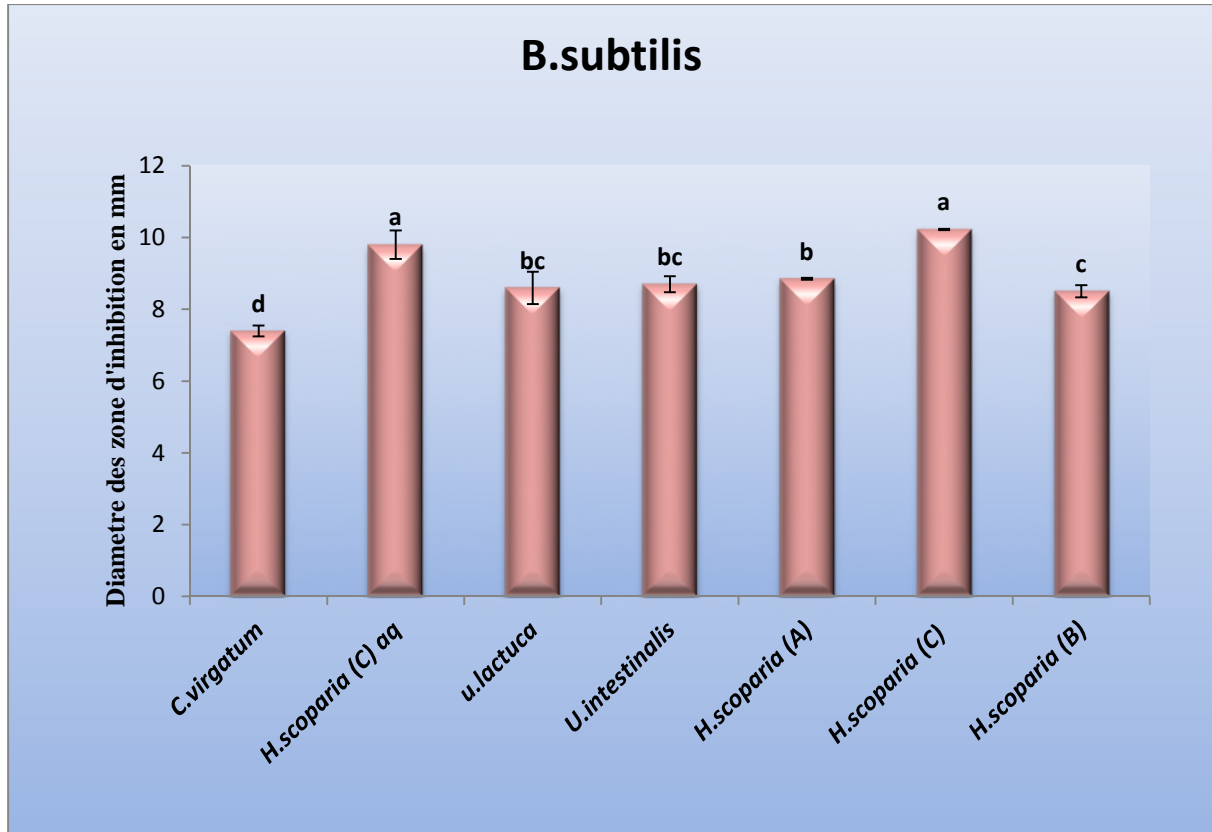


Figure 12 : Activité antibactérienne des différents extraits d'algues vis-à-vis de *B.subtilis*

La figure 12 indique que pratiquement tous les extraits d'algues ont donné des zones d'inhibition avec des valeurs allant de 7.4mm à 10.22mm, les diamètres les plus élevés sont 10.22 mm et 9.8 mm pour l'extrait (Ethanol /eau) et (Aqueux) de *H.scoparia* (C) respectivement, ces deux extraits diffèrent significativement des autres. Nous avons constaté que la plus faible zone d'inhibition a été obtenue pour *C.virgatum*, avec un diamètre < 8mm, pour qui la souche *B.subtilis* semble être assez résistante.

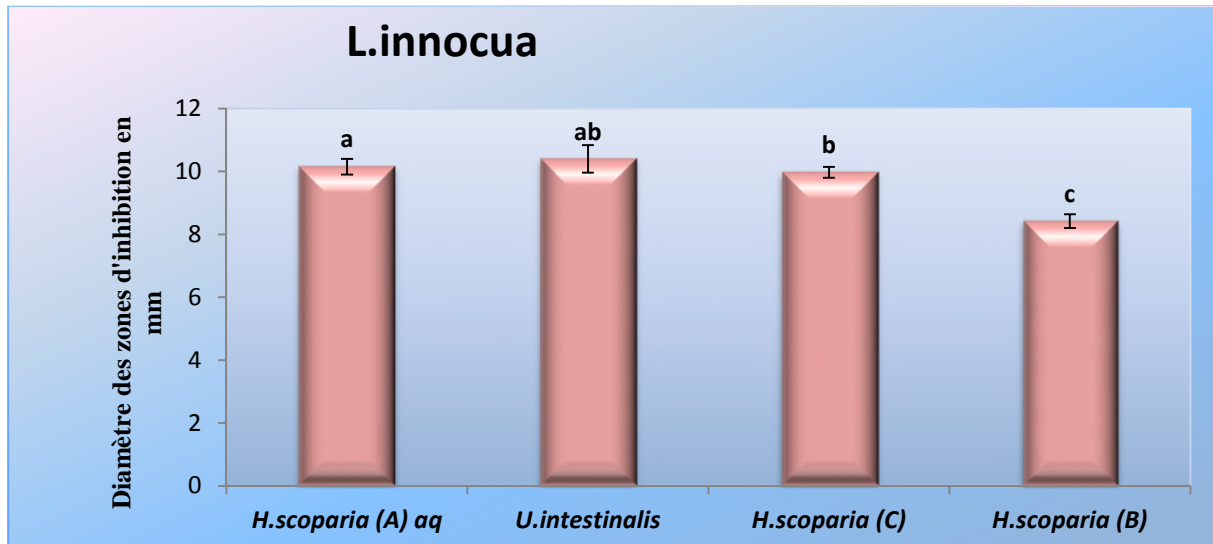


Figure 13 : Activité antibactérienne des différents extraits d'algues vis-à-vis de *L.innocua*

Selon l'étude statistique, on constate qu'il y a des différences significatives des extraits d'algues *U.intestinalis*, *H.scoparia* (C) et (B) respectivement vis-à-vis de *L.innocua*, l'extrait aqueux semble exhiber une activité antibactérienne modérée sur la souche *L.innocua* avec un diamètre de la zone d'inhibition égal à $10,15\text{mm} \pm 0,25$. Cependant une activité plus importante a été notée pour *U.intestinalis* (Eth/Eau), avec un diamètre de zone d'inhibition égale à $10,4\text{mm} \pm 0,44$, alors que l'activité de *H.scoparia* (B) s'est avérée être la plus faible avec un diamètre de zone d'inhibition de $8,42\text{mm} \pm 0,22$.

Baghavaty et al. 2012, ont étudié l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de l'algue verte *Chlorococcum humicola* et ce contre *Salmonella typhimorium*, *Vibrio cholerea* et *Bacillus subtilis* et ont constaté que cet extrait a inhibé efficacement ces trois souches avec un diamètre de zone d'inhibition de 13mm et 15 mm pour *S.typhimorium*, *Vibrio cholerea*, et *Bacillus subtilis* respectivement, ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus dans notre étude pour l'algue verte *Ulva intestinalis*, cette différence peut être liée à la saison de la récolte ainsi qu'aux différentes étapes de croissance de cette algue (**Adaikaraj et al., 2012**).

Al saif et al. 2014 ont testé l'activité antibactérienne de quelques espèces d'algues dont l'algue verte *Ulva reticula* et l'algue rouge *Gracilaria dendroides* et ce vis-à-vis de *E.coli* et *S.aureus* respectivement, l'algue verte *U.reticula* s'est révélée avoir une forte activité envers *E-coli* avec 25mm de diamètre de zone d'inhibition nettement supérieure aux résultats obtenus concernant l'algue verte *Ulva intestinalis* vis à vis de la même souche, et pourrait être liée à la nature des métabolites produites par l'algue, mais aussi à la stabilité, solubilité dans le milieu et la capacité de contact (**Bae et al., 1993**), cependant ces mêmes auteurs ont noté que l'algue rouge

Gracilia dendroides possédait une activité envers *S.aureus* avec un diamètre inférieurs à 10mm, le même résultat est obtenu par **Farid et al. (2012)** pour l'extrait éthanol/dichlorophorme des deux algues rouge *Gracilia multipartita* et *Pterosiphonia complanta* vis-à-vis de la même souche, ceci dit **kolanjinathan et al. (2009)** ont aussi évalué l'activité d'une algue rouge *Gracilia edulis* vis-à-vis de *S.aureus* et *E.coli* et ont constaté qu'elle possédait une activité vis-à-vis des deux souches bactériennes avec un diamètre de $10.5\text{mm} \pm 0.5$ pour *E.coli*, et une bonne activité antibactérienne vis a vis de SARM avec un diamètre de $12.5\text{mm} \pm 0.6$ ce qui est supérieur a nos résultats , cette différence peut être du au type et a la nature de substance bioactive produite par cet algue, effectivement **Mannivannan et al. (2011)** ont démontré que le type et la nature des substances bioactives influence le potentiel de l'effet antibactérien.

L'étude de **Manivannan et al. (2011)** porté sur l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de deux algue brune *turbinaria conoides*, vis-à-vis de *E.coli* et *V.cholerea*, et *Pedina gymnospora* vis-à-vis de *S.typhi* et *S.aureus*, a montré une activité modéré vis-à-vis d *e-coli* avec 8mm de diamètre ce qui est moyennement proche des résultats obtenus pour nos trois extraits de *H.scoparia* (A, B, C), ce constat a été enregistré par **Chiheb et al. (2009)** qui ont aussi noté que les deux extraits d'algues brune *Cystoseira Tamariscifilia* et *Pedina Pavonica* ont révélé de faible activités contre *E.coli*, ceci dit *V.cholerae* s'est montré résistante vis-à-vis de ces même algue avec un diamètre égal a $6.33\text{mm} \pm 0.51$, ce qui est inférieur aux résultats obtenus pour les trois extraits de *H.scoparia* et pourrait être du a la richesse en composées actifs très polaires et moyennement polaires présents dans le solvant aqueux et Ethanoliques respectivement. Concernant l'activité de l'espèce *pedina gymnospora*, ces auteurs on noté une bonne activité vis-à-vis de *S.aureus* avec un diamètre de $12.3\text{mm} \pm 0.89$, cependant l'activité de cet algue vis-à-vis de *S.typhi* été de $14.33\text{mm} \pm 1.86$ ce qui est supérieurs a nos résultats, cette variation peut être la cause des paramètres écologiques induits par les facteurs climatiques, la température, la salinité, la lumière, l'oxygène dissous et les sels nutritifs, ou

bien liée à la physiologie de l'algue elle-même (**Hornsey et Hide, 1985**).

Devanya et ses collègues. (2012) n'ont enregistré aucune activité antibactérienne pour l'extrait méthanolique de l'algue brune *Padina pavonica* vis-à-vis de *Salmonella paratyphi* ceci

est différents aux résultats que nous avons obtenus, ou les trois différents extraits d'*Halopteris scoparia* ont montré une activité envers *Salmonella typhi* avec le plus grand diamètre d'inhibition de $9,95 \pm 0.25$, ceci pourrait s'expliquer par la richesse de notre algue en composés phénoliques dont les phlorotannins, **Eom et al. (2012)** ont rapporté que les algues brunes contiennent une teneur élevée en phlorotannins, présentant une activité antimicrobienne vis-à-vis de SARM, *Salmonella sp*, *Bacillus subtilis*, *Vibrio sp* et *E-coli* (**Hao et jeon, 2005**).

L'étude de **Adaikaraj et al. (2012)** a révélé une activité pour l'extrait méthanolique de l'algue rouge *Gracilaria verrucosa* similaire au notre vis-à-vis de *S.typhi*, mais n'a noté aucune activité pour l'espèce *Enatiocladia prolifera*, cette différence peut être expliquée par le procédé d'extraction, et le type de solvant utilisé (**Kandhahassamy et al., 2008**).

Lors de leur étude **Seenivassan et al. (2010)** ont enregistré une résistance de *E.coli* envers l'extrait éthanolique de *ulva intestinalis*, ce constat ne concorde pas avec nos observations et pourrait s'expliquer par la richesse de notre extrait en composé bioactif. Durant leurs études, **Taskin et al. (2007)** et **Al saif et al. (2014)** ont noté qu'il n'y avait aucune activité de l'extrait aqueux des deux algues verte *Ulva reticula*, *Ulva rigita* respectivement envers *E.coli*.

Oumaskour et ses collègues (2012) ont testé l'activité de l'extrait éthanolique de l'algue verte *Ulva intestinalis* vis-à-vis de *S.aureus* et n'ont observé aucune activité ceci est concordant avec nos résultats obtenus pour les deux algues vertes *Ulva lactuca* et *Ulva intestinalis*, ces mêmes auteurs ont révélé qu'aucune zone d'inhibition n'a été observée pour les extraits aqueux des espèces *Cystoceira humilis*, *Sargassum vulgare*, *Fucus spiralis*, vis-à-vis de *B.subtilis* ceci est similaire aux résultats obtenus pour les extraits de l'algue brune *H.scoparia* A et B, cependant différent des résultats obtenus pour *H.scoparia* C, et pourrait être lié à la composition de cet extrait, qui peut être plus riche en composés actifs polaires. Nous notons que dans la présente étude les trois extraits de l'algue brune *H scoparia* présente un effet antibactérien sur de la souche *Bacillus subtilis*, nos résultats sont concordants avec ceux obtenus par **González et al. (2011)** dans leur étude effectuée avec la même espèce algale et sur de la même souche, ils ont montré que l'activité antibactérienne de cette espèce est considérée comme étant un indicateur concernant la capacité de cette algue à produire des composés bioactifs.

Les résultats obtenus par **Farid et al. (2012)** concernant l'activité de l'algue rouge *Pterosiphonia complanta* vis-à-vis de *B.subtilis* a révélé que l'extrait éthanolique de cette

algue possédait une activité modérée envers la même souche avec un diamètre de zone d'inhibition inférieur à 10mm, ces mêmes auteurs ainsi que **Younes et al. (2009)** ont travaillé sur deux algues brunes *Cystoseira humilis* et *C.bifurcata*, et ont montré qu'elles possédaient une bonne activité vis-à-vis de SARM avec un diamètre de zone d'inhibition supérieurs à 15mm.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que SARM est plus sensible comparé aux autres souches tests avec le plus grand diamètre d'inhibition, ceci a été constaté par plusieurs auteurs (**Vidyathi et Sridhar, 1991; Febles et al., 1995 ; El Kouri et al., 2004 ; Oumaskour et al., 2012**).

L'activité de l'algue rouge *Ceramium virgatum* vis à vis de *Vibrio cholerae* pourrait être due à une teneur élevée en composés phénoliques Halogénés tel que les Bromophenols (BPs) ; effectivement une activité antibactérienne prometteuse a été décelée par la présence de divers BPs d'algue marine (rouge et brunes) (**Chouikhi, 2013**). Cinq BPs isolés à partir d'algue rouge *Rhodomella confervoides* ont été testés à l'égard de huit souches Gram positif et Gram négatif et ont montré une activité antibactérienne puissante et modérée respectivement (**XU et al., 2003**).

L'absence d'activité antibactérienne de l'algue verte *Ulva lactuca* vis-à-vis de pratiquement toutes les souches peut être due à l'absence de composés apolaires dans notre extrait car il a été rapporté que l'activité antibactérienne de cette algue était due à la présence de composés apolaires et moyennement polaires incluant les caroténoïdes tels que α -Carotène, 9-cis β -carotène et Cryptoxanthin, les chlorophylles comme la Chlorophylle a et la Chlorophylle b, ainsi que les composés phénoliques acide coumarique et l'acide salicyclique (**Abd El-Baky et al., 2009 ; Baghavaty et al., 2011 ; Sabeena Farvin et Jacobseen, 2013**).

Dans notre étude on remarque que les extraits éthanoliques de nos algues possèdent une plus grande activité antibactérienne par rapport aux extraits aqueux, cela serait dû à la différence entre les deux solvants employés cela a été mentionné par **Sabeena Farvin et Jacobsen. (2013)**, ces auteurs ont rapporté que l'éthanol précipiterait la plus part des protéines laissant quelques composés phénoliques en solution, donc on pourrait supposer que l'extrait éthanolique est plus riche en composés phénoliques moyennement polaire et polaire, alors que l'extrait aqueux est riche en composés très polaires puisque l'eau est connue pour être plus polaire que l'éthanol. Par ailleurs les conditions d'extraction influencent la composition des extraits obtenus, ceci a été rapporté par plusieurs auteurs (**Adaikaraj et al., 2010 ; Baghavaty**

et al., 2011) ; effectivement l'obtention des extraits éthanoliques s'est effectuée à 120°C, ce qui certes augmente la solubilité des composés voulus mais peut aussi éliminer les composés thermolabiles tels que les pigments ; tandis que l'obtention des extraits aqueux s'est effectuée à température ambiante 25°C, ce qui a pu extraire les différents pigments tel que la phycoérythrine qui est une phycobiliprotéine thermolabile contenue dans *C. virgatum* dont l'extrait aqueux (obtenu à température ambiante) a montré une activité antibactérienne envers les Gram négatif, *E.coli*, *V.cholerea* et *S.tiphy* avec des CMI égal à 20mg/ml, 30mg/ml et 40mg/ml respectivement.

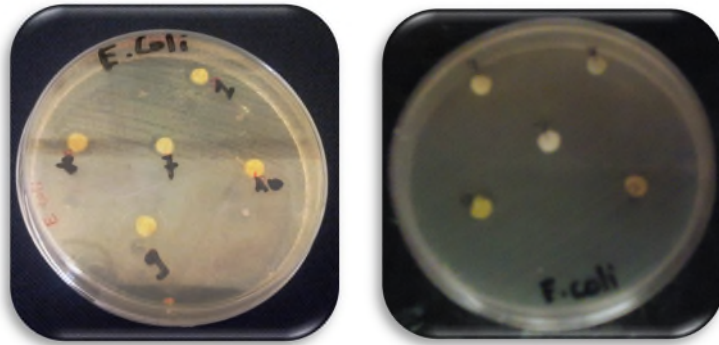


Figure 14 : Photographie de quelques zones d'inhibition de différents extrait vis-à-vis de *E.coli* .Extrait 1 : *C.virgatum* ; Extrait 3 :*H.scoparia (C) aqueux*; extrait 7 :*U.intestinalis* ; extrait 8 : *H.scoparia (A)* ; extrait 9 :*H.scoparia (C)* ; extrait 10 : *H.scoparia (B)*.

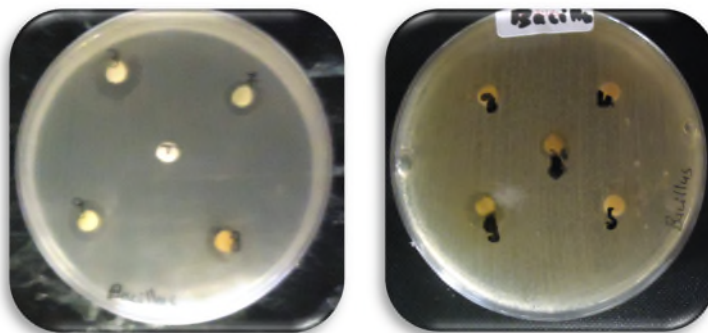


Figure 15 : Photographie de quelques zones d'inhibitions de différents extraits vis-à-vis de *B.subtilis* . Extrait 1 : *C.virgatum* ; Extrait 3 :*H.scoparia (C) aqueux*; extrait 4 : *H.scorpio (B) aqueux* ; extrait 5 : *H.scorpio (A) aqueux* ; extrait 7 :*U.intestinalis* ; extrait 8 : *H.scoparia (A)* extrait 9 :*H.scoparia (C)*.

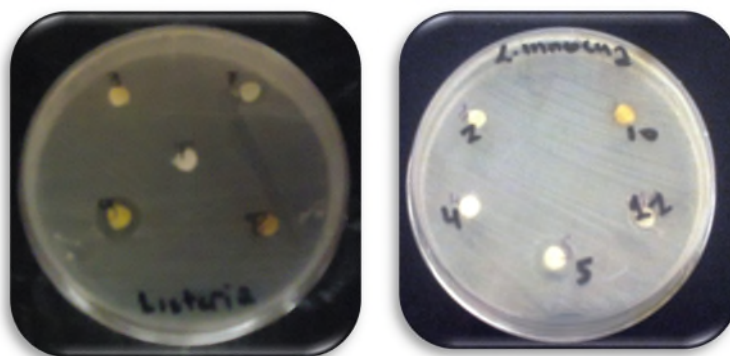


Figure 16 : Photographie de quelques zones d'inhibitions de différents extraits vis-à-vis de *L.innocua* . Extrait 1 : *C.virgatum* ; Extrait 3 :*H.scoparia (C) aqueux*; extrait 4 : *H.scorpio (B) aqueux* ; extrait 5 : *H.scoparia (A) aqueux* ; extrait 7 :*U.intestinalis* ; extrait 8 : *H.scoparia (A)* extrait 9 :*H.scoparia (C)* ; extrait 10 : *H.scoparia (B)* ;extrait 11 : *U.intestinalis* aqueux.

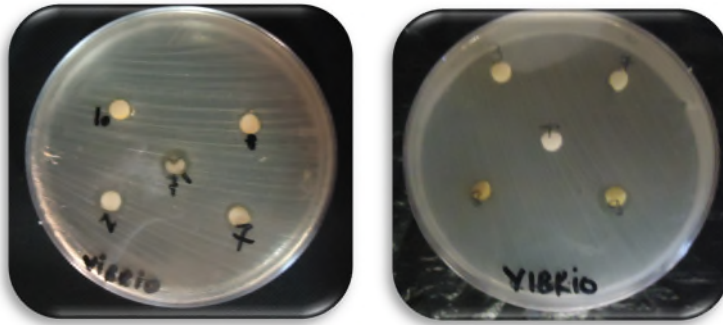


Figure 17 : Photographie de quelques zones d'inhibitions de différents extraits vis-à-vis de *V.cholerae* . Extrait 1 : *C.virgatum* ; Extrait 3 :*H.scoparia* (C) aqueux; extrait 7 :*U.intestinalis* ; extrait 8 : *H.scoparia* (A) extrait 9 :*H.scoparia* (C) ; T : témoin.

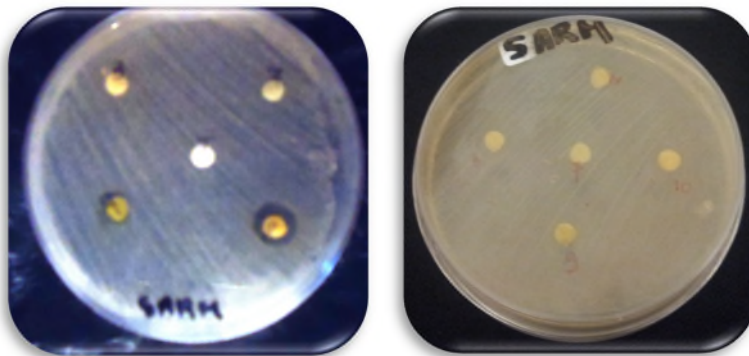


Figure 18 : Photographie de quelques zones d'inhibitions de différents extraits vis-à-vis de *SARM* . Extrait 1 : *C.virgatum* ; Extrait 3 :*H.scoparia* (C) aqueux; extrait 7 :*U.intestinalis* ; extrait 8 : *H.scoparia* (A) extrait 9 :*H.scoparia* (C) ; extrait 10 :*H.scoparia* (B) ;T : témoin.

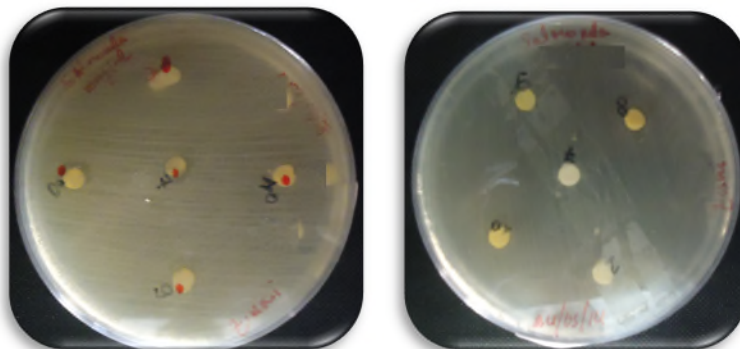


Figure 19 : Photographie de quelques zones d'inhibitions de différents extraits vis-à-vis de *S.tiphy* . Extrait 1 : *C.virgatum* ; Extrait 3 :*H.scoparia* (C) aqueux; extrait 7 :*U.intestinalis* ; extrait 8 : *H.scoparia* (A) extrait 9 :*H.scoparia* (C) ; extrait 10 :*H.scoparia* (B).

II.2.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB) :

Les concentrations minimales inhibitrices des différents extraits phénoliques des quatre espèces d'algues ont été déterminées en utilisant la méthode de microdilution sur bouillons Mueller Hinton, celle-ci permet un contact direct de l'extrait avec la souche cible améliorant ainsi sa diffusion.

Les résultats obtenus sont représenté dans les tableaux VIII et IX, On peut noter que les CMI les plus faible sont enregistrés pour les extrait éthanol/eau de *H.scopatia* (C) et *C.virgatum* vis-à-vis de *vibrio cholerae*, *selmonella typhi* et *bacillus subtilis*, *selmonella typhi* respectivement avec une concentration de 1mg/ml, les CMI les plus élevées sont obtenus pour les extraits *U.intestinalis* et *H.scoparia* (A) envers *V.cholerae*, *C.virgatum* envers *E.coli*, et extrait *H.scoparia* (C) envers SARM, l'extrait aqueux de l'algue *C.virgatum* a aussi été testé vis-à-vis des six souches bactériennes, et a montré une activité seulement envers les bactéries a Gram négatif (*E.coli*, *V.cholerea*, *S.typhi*). Nous constatons que ces CMI diffèrent d'un extrait à l'autre et d'une souche bactérienne à une autre.

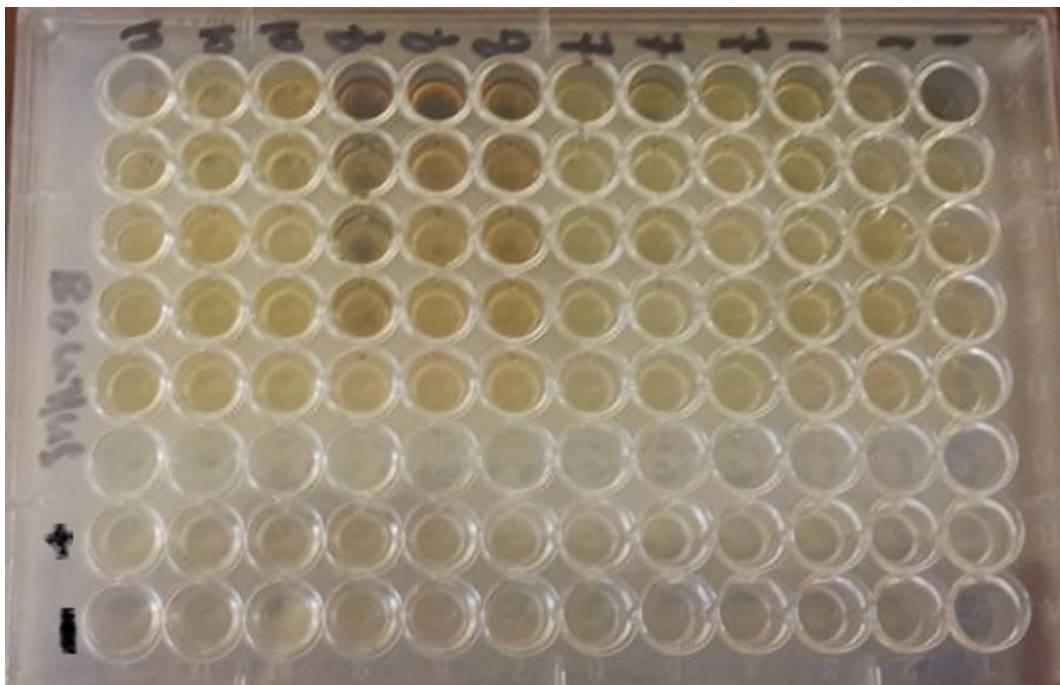


Figure 20 : Photographie de la microplaque illustrant la CMI de quelques extraits vis a vis de *B.subtilis*. (1) : *C.virgatum*, (7) : *U.intestinalis*, (8) : *H.scoparia*(A), (10) : *H.scoparia* (B),(+) témoin positif, (-) témoins négatif

	Souches	<i>E-coli</i>	<i>V.cholerea</i>	<i>S.tiphy</i>
ETH/EAU	<i>C.virgatum</i>	7,5mg/ml	5mg/ml	1mg/ml
	<i>U.intestinalis</i>	5mg/ml	7,5mg/ml	2,5mg/ml
	<i>H.scoparia (A)</i>	2,5mg/ml	7,5mg/ml	5mg/ml
	<i>H.scoparia(C)</i>	5mg/ml	1mg/ml	1mg/ml
	<i>H.scoparia (B)</i>	Non testé	Non testé	Non testé
Aqueux	<i>C.virgatum</i>	20mg/ml	30mg/ml	40mg/ml

Tableau VII : Concentrations minimales inhibitrices des différents extraits d'algues vis-à-vis des bactéries Gram négatif

	souches	<i>L.innocua</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>SARM</i>
ETH/EAU	<i>C.virgatum</i>	/	1mg/ml	2.5mg/ml
	<i>U.intestinalis</i>	5mg/ml	5mg/ml	/
	<i>H.scoparia (A)</i>	/	5mg/ml	5mg/ml
	<i>H.scoparia(C)</i>	2.5mg/ml	2.5mg/ml	7.5mg/ml
	<i>H.scoparia (B)</i>	2,5mg/ml	2.5mg/ml	Non testé
Aqueux	<i>C.virgatum</i>	Negatif	negatif	<i>negatif</i>
	<i>H.scoparia (C)</i>	/	Non testé	/
	<i>H.scoparia (A)</i>	30mg/ml	/	/

Tableau VIII : Concentrations minimal inhibitrice des différents extraits d'algues vis-à-vis des bactéries Gram positif

Santoyo et al. (2009) ont déterminé les différentes concentrations minimales inhibitrices de l'extrait d'algue *Haematococcus pluvialis* obtenus par la même méthode d'extraction (PLE), et en utilisant la même méthode de microdilution sur bouillon Mueller Hinton, et ce vis-à-vis de *E.coli* et *S.aureus*, les CMI de l'extrait éthanolique est de 2.5mg/ml envers *E-coli* et *S.aureus* ceci s'accorde avec le résultat de l'effet inhibiteur de l'extrait 8 vis-à-vis de *E.coli* et de l'extrait 1 vis-à-vis de *SARM*.

La concentration minimale inhibitrice obtenue par **Devanya et al. (2012)** pour l'extrait de l'algue brune *Padina gymnospora* envers *B.subtilis* et *SARM* est similaire à celle obtenues pour *H.scoparia (A)* envers les mêmes souches bactérienne, avec une CMI égal 5 mg/ml.

L'essai antibactérien des algues brune verte et rouge vis-à-vis des bactéries Gram positif et Gram négatif a été établi par plusieurs chercheurs (**kolanjinathan et al., 2009**), l'activité antimicrobienne des algues marines peut être influencée par plusieurs facteur comme l'habitat et la saison de la récolte algal, les différents stades de croissance de la plante, les méthodes

expérimentales (**Kandhasamy et Arunachalam, 2008**). Mais la variation dans l'activité antimicrobienne peut être due à la méthode d'extraction et le solvant employé (**kolanjinathan et stella, 2009**), Beaucoup de solvant ont été employés pour l'extraction de composés actifs, mais il existe toujours des incertitudes concernant le solvant le plus efficace et souhaitable pour l'extraction (**Adaikaraj et al., 2010**). **Santoyo et al. (2009)** ont rapporté que l'extrait le plus efficace en termes d'activité antibactérienne est obtenu en utilisant l'éthanol à 100°C, **Umamaheswari et al. (2006)** ont évalué l'activité antibactérienne de l'algue *Chaetomorpha aerea* et ont constaté que le potentiel antibactérien le plus élevé a été obtenu en utilisant l'éthanol comme solvant, ce fait a aussi été constaté par **Plaza et al. (2010)**, qui ont rapporté que l'extrait éthanolique était plus actif que l'extrait hexanique car l'extrait éthanolique contenait plusieurs composés volatils tels que les acides gras, les alcanes, les phénols et les phytols, ceci dit **Kayalvizhi et al. (2012)** ont rapporté que l'extrait acétonique présente la plus forte activité antibactérienne vis-à-vis des Gram positif et Gram négatif par rapport aux autres solvants, **Arunachalam et al. (2014)** ont étudié le potentiel antibactérien de quelques algues en utilisant différents solvants et ont constaté que l'extrait méthanolique possédait la plus grande activité envers les souches testées.

Valls et al. (1993) ont rapporté que La composition chimique (diterpénoïdes) de l'espèce *Cystoseira tamariscifolia*, récoltée sur la côte Sicilienne d'Italie, est différente de la même algue récoltée sur la côte marocaine. De même la composition chimique des algues *Cystoseira stricta* et *Cystoseira mediterranea*, récoltées de la côte Sicilienne, est différente de celles récoltées sur la côte méditerranéenne Française, ceci serait lié à la composition de nos trois différents extraits de *Haloptris scoparia* et expliquerait la différence d'activité antibactérienne entre les trois.

De nombreux travaux ont trouvé que 80% d'espèces appartenant à la classe des Rhodophycées présentent plus d'activité antimicrobienne que les deux autres classes **Elkouri et al. (2004)** ; **Mahasneh et al. (1995)**. **Etahiri. (2002)** a rapporté que parmi les algues récoltées sur la côte d'El Jadida, la classe des Phéophycées est la plus riche en espèces actives (85%) suivie par la classe des Chlorophycées (40%) et les Rhodophycées (38%). D'autres travaux montrent que les deux classes d'algues Rhodophycées et Phéophycées ont une activité antimicrobienne intéressante ; alors qu'elle est absente chez les Chlorophycées (**Caccamese et al., 1985**). **Reichelt et Borowitzka. (1983)** ont montré que les ulves ont des effets antimicrobiens sur les

bactéries gram positif et gram négatif, par contre **Kumar et Rengasamy. (2000)**, **Caccamese et Azzolina (1979)** ainsi que **Ktari (2000)**, ont montré que l'activité antimicrobienne est absente dans les extraits d'algues des ulves.

D'après les résultats obtenus on constate que il y a une corrélation négative entre le taux de polyphénols totaux et l'activité antibactérienne, effectivement on note que l'espèce ayant la plus grande teneur en composés phénoliques n'est pas forcément celle ayant le plus d'activité antibactérienne, en comparant l'extrait de *H.scoparia (A)* (42,97 mg Eq AG/g), *H.scoparia (C)* (30.79 mg Eq AG/g) avec l'extrait de *H.scoparia B* (28.16 mg Eq AG/g) , on constate que celles ci possèdent le plus d'activité que *H.scoparia (A,C)* et ce vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées (Annexe VI). cela pourrait être lié à la nature des polyphénols présent conditionnant cette activité mais il est aussi probable que les autres extraits d'algues obtenus renferment des composés non phénoliques ayant le pouvoir antibactérien tel que les polysaccharide sulfaté, peptides, et les caroténoïdes notamment la fucoxanthine ; l'activité antibactérienne des algues Brune due à ce type de composé a été prouvé par plusieurs études (**Plaza et al., 2008 ; Younes et al., 2009 ; Se-kwon et Isuru, 2010 ; El Gamal, 2010 ; Costa et al., 2010 ; Wang et al., 2010 ; Farid et al., 2012**).

L'algue rouge *C.virgatum* a présenté vis-à-vis de quelques souches (*E.coli*, *V.cholerea*, *SARM*) une meilleure activité que *H.scoparia (A)* malgré son taux assez faible en composés phénoliques par rapport à celle-ci. Cela pourrait être dû à la présence du composé di (2, Bromo-4-5 dihydroxybenzyl) ether par exemple, effectivement **Xu et al. (2003)** ont isolé cinq bromophénols à partir de l'extrait méthanolique de l'algue rouge *Rhodomella confervoides* et ont testé leur activité antibactérienne sur huit souches dont *S.aureus* , *E.coli* ; *P.aérogenosa* ; ont enregistré que ce composé (di (2, Bromo-4-5 dihydroxybenzyl) ether) possède le meilleur effet inhibiteur contre cinq des souches testées Avec une CMI inférieure à 70 µg/ml.

L'effet bactéricide ou bactériostatique des quatre algues différents d'un extrait à l'autre et d'une souche bactérienne à une autre, à savoir que la majorité des extraits exercent un effet bactériostatique envers les six souches à l'exception de *U.intestinalis* et *H.scoparia (C)* qui exercent un effet bactéricide envers *E.coli* et *L.innocua*.

La détermination des CMI par la méthodes des microdilutions sur bouillon Muller Hinton nous a permis de mettre en évidence le réel pouvoir antibactérien non observé sur milieu solide, ce fait est lié à l'hydro solubilité et à la diffusion des composés phénoliques.

Conclusion

Conclusion

L'objectif de cette étude était d'évaluer en premier lieu l'activité antibactérienne des extraits de quatre espèces d'algues marines (*Ulva.lactuca*, *Ulva.intestinalis*, *Halopteris scoparia*, *Ceranium virgatum*), de la côte ouest de Bejaia appartenant à différentes familles botaniques vis-à-vis des six souches de référence à Gram positif et à Gram négatif à savoir : *E.coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, *Bacillus subtilis*, *SARM*, *Listeria innocua*

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux ont montré que *Halopteris Scoparia* est la plus riche (42.97mg Eq.AG/g de poudre \pm) tandis que *Ulva intestinalis* en est la plus pauvre (14.70 mg Eq. AG/g de poudre).

L'évaluation de l'activité antibactérienne montre que la plupart des souches testées sont sensibles aux différents extraits d'algues marines étudiées. En comparant la sensibilité des souches tests, on constate que la susceptibilité des bactéries Gram positif et Gram négatif envers nos extraits est similaire. Ceci s'accorde avec quelques unes des études menées sur ce thème, nous pouvons en déduire que nos extraits issus des quatre différentes espèces algales possèdent un large spectre d'activité biologique, ou bien prétendre qu'elles possèdent une richesse et diversité en métabolites secondaires.

Une importante activité antibactérienne est enregistrée pour les trois différents extraits de l'algue brune *Halopteris scoparia* qui s'est montrée active sur toutes les souches testées, la méthode d'extraction utilisée a permis l'obtention d'extrait contenant une teneur considérable de composés phénoliques, plusieurs études ont mentionné que l'activité antibactérienne des algues brunes est due essentiellement à la présence de composés phénoliques, de polysaccharide sulfaté, de composés terpéniques ainsi que de caroténoïdes (fucoxanthine). Ces résultats montrent que l'utilisation d'extrait de *H.scoparia* à la place de certains conservateurs peut être envisagée dans le domaine de l'industrie agro-alimentaire.

Pour mieux compléter ce travail il serait intéressant de :

- Tester l'activité antifongique des extraits ainsi que d'autres souches bactériennes (*Listeria monocytogenes*).

- D'isoler, de caractériser et d'identifier les différents principes actifs présents dans les extraits d'algues étudiées, par chromatographie et technique plus avancée telles que l'HPLC, et la RMN
- Faire des tests in vivo afin d'évaluer la toxicité des extraits
- Additionner nos extraits à quelques produits alimentaires (charcuteries, produits laitiers) et voir l'effet engendré.

Références Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abd El-Baky HH, El-Baz FK, El-Baroty GS. (2009). Natural preservative ingredient from marine algae *Ulva lactuca*. International Journal of Food Science and Technology. **44**, 1688–1695.

Adaikaraj G, Patric RD, Johnson M, Janakiraman N, et Babu A. (2012). Antibacterial potential of selected red seaweeds from Manapad coastal areas, Thoothukudi, Tamil Nadu, India. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. **2** suppl 2 : 1077-1080.

Al-Saif SSAL, Abdel-Raouf N, El-Wazanani HA, Aref IH. (2014). Antibacterial substances from algae isolated from Jeddah coast of Red sea, Saudi Arabia. Saudi Journal of Biological Sciences. **21**, 57-64.

Alekseyenko T.V. Zhanayeva SY, Venediktova AA, Zvyagintseva, TN, Kuznetsova TA, Besednova, NN et Korolenko T.A. (2007). Antitumor and antimetastatic activity of fucoidan, a sulfated polysaccharide isolated from Okhotsk sea *Fucus evanescens* brown algae. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. **143**, 730-732.

Anantharaman P et Kannan L. (2008). Seaweeds. Centre of advanced study in marine biology. Annamalai university,. India. pp. 214-221.

Arbousse-bastide T. (2006). Savoir faire anciens et exploitation des algues en Bretagne. Foods Social Européen. P:1-7.

Arunachalam P, Uthandakalai2 R, et rajsmail R. (2014). Evaluation of antibacterial activity of some selected green seaweeds extracts from Muttam coastal areas, Kanyaakumari, Tamil Nadu, India. **2** suppl 2 : 112-115.

Avril JL, Dabernat H, Denis F et Monteil H. (1992). Bacteriologie clinique. Edition Ellipses-Marketing, Paris (France). 602P.

B

Bae HD, Til A, Mc Allister , Jay Yank, Cheng, et Muir AD. (1993). Effects of Condensed Tannins on Endoglucanase Activity and Filter Paper digestion By *Fibrobacter Succinogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*. **43**, 2132-2138.

Barsanti L et Gualtieri P. (2006). Algae: anatomy, biochemistry and biotechnology. *Ed. CRC press taylor et francis group*. Boca Raton, London and New York, P. 320.

Bengueddour Y, El Hani S, El Ibaoui H, El Ayadi H, Brhadha N. (2014). Etude de l'activité antioxydante de *Gelidium Sesquipedale* par chromatographie liquide haute performance. *Nature & Technologie Sciences Agronomiques et Biologiques*. **10**, 29 – 33.

Bensamir A, Blum M, Schroder S, et Lindequist U. (2006). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*. **252**, 79-84.

Bhagavaty S, Sumathi P, Jancy Sherene Bell I. (2011). Green algae *Chlorococcum humicola* a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **S1-S7**.

C

Cabioc'h J, Floc'h JY, le Toquin A, Boudouresque CF, Meinesz A et Verlaque M. (1992). Guide des algues des mers d'Europe. Edition : delachaux et Niestlé. P : 231.

Caccamese S., et Azzolina R. (1979). Screening for antimicrobial activities in marine algae from eastern Sicily. *Planta. Med.* **37**, 333-339.

Caccamese S, Toscano RM, Furnari., et Cormaci M. (1985). Antimicrobial activities of red and brown algae from Southern Italy coast. *Bot. Mar.* **28**, 505 - 507.

Calliste CA, Trouillas P, Allais DP, Simon A, et Duroux JL. (2001). Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants. *Journal Agriculture Food Chemistry*. **49**, 3321-3327.

Caquet R.(2004). 250 examens de laboratoire : prescription et interprétation. Edition : Masson. Paris. P: 453.

Carabis-Martinez R, Rodriguez –Gonzalo E, Revilla-Ruiz P et Harnandez-Méndez J. (2005). Pressurized liquid extraction in analysis of food and biological samples. *Journal chromatography*. **89**, 1-17.

Chandini SK, Ganesan P, et Bhaskar N. (2008). In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food chemistry*. **107**, 707-713.

Chatter Riahi R, Tarhouni S, ET Kharra R. (2011). Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgesique des algues marines de la mer mediterrane. *Archs. Inst . Pasteur, Tunis*. **88**, 1-4.

Chbani A, Mawlawi H, et Etahiri S. (2011). Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *Padina pavinica*, récoltée sur les cotes libanaises. *Afrique science*. **07** suppl 03: 91-96.

Chiheb I, Riadi H, Martinez-Lopez J, Dominguez Seglar JF, Gomez Vidal JA, Bouziane H, et Kadiri M. (2009). Screening of antimicrobial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of morocco. *African Journal of Biotechnology*. **8** suppl 7: 1258-1262.

Chouikhi A. Les applications potentielles de macro algues marines et les activités pharmacologiques de leurs metabolites : Revue. USTHB-FBS-4th International Congress of the Populations & Animal Communities "Dynamics & Biodiversity of the terrestrial & aquatic Ecosystems" "CIPCA4" TAGHIT (Bechar) – ALGERIA ; (2013).p. 1-37.

Comité de l'Antibiogramme de la Société Francaise de Microbiologie (CA-SFM). Communiqué. (2009).

Costa LS, Fidelis GP, Cordeiro SL, Oliveira RM, Sabry DA, Camara RBG, Nobre LTDB, Costa MSSP, Almeida-Lima J, Farias EHC, Leite EL, Rocha HAO. (2010). Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. *Biomedecine and Pharmacotherapy*. **64**, 21-28.

Dai-hung N et Se-Kwon K. (2013). Sulfated polysaccharides as bioactive agents from marine algae. *International Journal of Biological Macromolecules*. **62**, 70-75.

Dabuineau L. (2004). Un autre regard sur les algues marines. Le dossier de Vivarmor. pp. 1-6.

Davis TA, Volesky B, et Mucci A. (2003). A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water research*, **37**, 4311-4330.

Demoulin G et Lymergie C. (2009). Les algues, le trésor de la mer filière et nutrition diététique ; Haute Ecole de Santé Genève (HEDS).

De Reviere B.(2002). Biologie et phylogénie des algues. Edition Bellin. Paris (France). 418p.

Devanya Rosaline X, Sakthivelkumar S, Rajendran K et Janarthanan S. (2012). Screening of selected marine algae from the coastal Tamil Nadu, south India for antibacterial activity. *Asian pacific journal of tropical biomedicine*, **S140- S146**.

Dhargalkar VK, et Pereira N. (2005). SEAWEED: Promising Plant of The Millennium. *Science and Culture*. **71**, 60-66

Diaz-paulido G et McCook L. (2008). Macroalgae (seaweeds). Edition: Great Barrier Reef Marine Park Authority, townsville .44p.

E

El Gamal AA. (2010). Biological importance of marine algae. *Saudi pharmaceutical journal*. **18**, 1-25.

El Hassouni H, Abdellaoui D, Gnaouat H, Dahmani FZ, Bengueddour R. (2013). Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de deux algues rouge, *ousmoundea pinnatifida* et *Gigartina acicularie*. *scienceLib*. Edition : Mersenne. **5**, N° 130612.

Elkouri A. (2004) : Recherche des propriétés : antibactérienne, antifongique, et anti-inflammatoire de quatorze espèces d'algues marines récoltées sur la côte d'El Jadida (Côte Atlantique Marocaine). Thèse de doctorat en Science. Fac. Sci. El Jadida, Maroc. pp 152p.

Eom SH, Kim YM, et Kim SK (2012). Antimicrobial effect of phlorotannins from marine algae. Food and chemical toxicology. **50**, 3251-3255.

Etahiri S. (2002). Isolement et caractérisation de composés pharmacologiquement actifs à partir des algues marines de la côte d'El Jadida (Maroc). Thèse de doctorat en Science. Fac. Sci. Univ El Jadida, Maroc. 142p.

F

FAO/OMS (huitieme rappoert des comité mixte (FAO/OMS) d'experts des additifs alimetaires. (1964). Normes d'identité et de pureté et évaluation de toxicologique des additifs alimentaires : colorants et divers antimicrobien et antioxydants. **309**, 1-28.

Farid Y, Etahiri S, et 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.

Farag RS, Badei AZM, Hewadi FM & EL-Baroty GS. (1989). Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. Journal of the American Oil Chemical Society. **66**, 792-799.

Fiorucci S. (2006). Activité biologique de composés de la famille des flavonoides : approche par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moleculaire, thèse de doctorat en pharmacie, universite de Nice-Sophia Antipolis. 211p.

Freitas AC, Rodrigues D, Rocha-Santos TAP, Gomez AMP, Duarte AC. (2012). Marine biotechnology advances towards applications in new functional foods. Biotechnology advances. **30**, 1506-1515.

G

Ganesan K, Kumar KS, et Rao PV. (2011). Comparative assessment of antioxidant activity in tree edible spices of green seaweeds *Enteromorpha* from Okha, Northwesr coast of india. Innovative Food Science and Emerging Technology. **12** suppl 1 : 73-78.

Gayrol P. (1975). Les algues morphologie cytologie reproduction ecologie. Edition : Doin. Paris, 166p.

Gulcin I, Oktay M, Kufrevioeglu O et Aslan, A. (2002). Determination of antioxidant activity of lichen cetraria islandica (L). Archive Journal of Ethnopharmacology, **79**, 325–329.

Gonzalez del val A, Platas G, Basilio A, Cabello A, Gorrochategui J, Suay I, Vicente F, Portillo E, Jiménez del Rio M, Reina GG et Pelaez F. (2011). Screening of antimicrobial activities in red, green, and brown macroalgae from Gran Canaria.(Canary island Spain). International Microbia. **4**, 35-40.

Gouget C, (2008). Additifs alimentaires Danger. Éditions Chariot d'Or. Paris, Pp : 15-35

Guezennec J, et Debitus C. (2006). Les ressources marines de la Polynésie française : applications en matière de biotechnologie, Edition IRD. pp.37-75

Guiraud J.P. (1998). Microbiologie alimentaire. Ed. *Dunod*.Paris, P: 625.

Gupta S, et Abughannam N. (2011). Bioactive potential and possible health effect of edible brown seaweeds. Trends in Food Science Technology. **22**, 31-326.

H

Hart T. et Shears P.(2006).Atlas de poche Microbiologies. Edition : médecine sciences flammariion. pp.78 - 87.

Helillo C, De La Broise D, Dufodé L, Le Gal Y, Bourgougnon N. (2001). Inhibition of marine bacteria by extract of macroalgae : potential use for environmentally friendly antifouling paints. Marine Environment Research. **52**, 231-247.

Heo SJ et Jeon YJ. (2005). Antioxidant effect and protecting effect against cell damage by enzymatic hydrolysates from marine algae. Food Science and Nutrition. **10**, 31-41.

Hornsey, I. S., et Hide, D. (1985): The production of antimicrobial compounds by British marine algae IV. Variation of antimicrobial activity with algal generation. British. Phycol. J. **20**, 21- 25.

I

Ibanez E, Herreeo M, Mendiola JA et Castro-Puyana, M.(2012). Extraction and characterisation of bioactive compounds with health benefits from marine resources : Macro and Micro algae, Cyanobacteria, and invertebrates. **2**, 55-98.

Iltis A. (1980). Les algues. Flores et faune aquatique de l’afrique Sahelo-Saoudienne. Volume I. Editon : IRD.Amazon France. pp: 11-61.

Institute national de cartographie et de teledetection (INCT). (2000).

J

Jirge SS, et Chaudhari YS. (2010). MARINE: The Ultimate Source of Bioactives and Drug Metabolites . International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy, **1 suppl 1** :55-62.

Justella wilfred P, Johnson M et Solomon J. (2011). Antimicrobial activity of certain fresh water micrialgae from Thamirabarani River, Tamil Nadu, South India. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedecine, S170- S173.

K

Kandhasamy M, et Arunachalam KD. (2008). Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southest coast of india. Afrique journal biotechnology. **7** suppl 12: 1958-1961.

Kayalvizhi. K, Vasuki Subramanian, Anantharaman. P, Kathiresan. K. (2012). Antimicrobial Activity of A seaweeds from the Gulf of Mannar. International Journal of Pharmaceutical Applications, **3** suppl 2 :306-314.

Kim KH, Kim YW, Kim HB, Lee Bj et Lee, DS. (2006). Antiapoptotic activity of laminarin polysaccharide and their enzymatically hydrolyzed oligosaccharide from *laminaria japonica*. Biotechnology Letters, **28**, 439-446.

Klejduš B, Kopecký J, Benesová L, Vacek, J. (2009). Solid-phase/supercritical fluid extraction for liquid chromatography of phenolic compounds in fresh water microalgae and selected cyanobacterie species. Journal of chromatography. **1216**, 767-771.

Kolanjinathan K, Ganesh P, Govindarajan M. (2009). Antibacterial activity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens. Rev Med pharmacol Sci. **13**,173-177.

Kolanjinathan K et Stella D. (2009). Antibacterial activity of marine macroalgae against human pathogens. *Science Technology*. **1**, 20-22

Ktari L. (2000). Recherche de composés actifs dans les algues marines: propriétés pharmacologique, stimulation du cycle biologique de l'algue et de la biosynthèse d'un métabolite. Thèse. Univ. Paris VI. 140p.

Kumar A K., et Rengasamy R. (2000). Evaluation of antibacterial potential of seaweeds occurring along the coast of Tamil Nadu, India against the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Ishiyama) Dye. *Bot. Mar.* **43**, 409 - 415.

L

Li AH, Cheng K, Wong C, King-Wai F, Feng C & Yue J. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*. **102**, 771–776.

Liu L, Heinrich M, Myers S, Dworjanyn SA. (2012). Towards a better understanding of medicinal uses of the brown seaweed *Sargassum* in traditional chinese medicine : a phytochemical and pharmacological review. *Journal of ethnopharmacology*. **142**, 591-619.

M

Mac Hugh DJ. (2003). Guide de la filière algues. Document technique pêche de la FAO. (a guide to the seaweeds industry. 118p.

Macias-Sanchez MD, Mantell C, Rodriguez M, Martinez de la Ossa E, Lubian et LM, Montero O. (2009). Comparaison of supercritical fluid and ultrasound-assisted extraction of carotenoids and chlorophyll a from *dunaliella salina*. *Talanta*. **77**, 948-952.

Mahasneh I, Jamal M, Kashahneh M, et Zibdeh M. (1995): Antibiotic activity of marine algae against multi-antibiotic resistant bacteria. *Microbios*. **83**, 23-26.

Manneville O. Les lichens et algues de nos côtes, surtout rocheuse. LECA-SAJF-UJF Grenoble. Février 2009. Complément à la conférence de Gantiana.

Manivannan K, Kathikai devi G, Anantharaman P, et Balasubramanian T. (2011). Antimicrobial potential of selected brown seaweeds from Vedalai coastal waters, Gulf of Mannar. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Pp :114-120.

Marfing H, Bolzec L, CEVA. (2011). L'apport du design alimentaire dans la conception d'un nouveau produit aux algues. Industries Alimentaires et Agricoles. Pp : 18-20.

Matanjun P, Mohamed S, Mustapha NM, Muhammad K, et Ming CH. (2008). Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo. Journal of applied Phycology. **20**, 367-373.

Mendis E, et Kim SK. (2011). Present and futures prospects of seaweeds in developing fonctionnl foods. Food and Nutitional Research3 **64**, 2-13.

Mesnildrey L, Reunavot M, et Lesueur M. (2012).les filières des Macroalgues en France. Pole halieutique,Agro-Campus ouest. p38.

Meyer A, Deiana J et Leclerc H. (1994). Cours de microbiologie générale. Edition : Doin. Paris.365p.

Mustapha A. and Turnur A. (2011). Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plant extraction : a review. Analytica Chimi Acta. **703**, 8-18.

N

Naegelé E. et Naegelé A. (1967). Les algues. Edition : presse .universitaire de France.Paris. pp127.

Nayeemulla S., Sudarshana M.S., Umesha S., and Hariprasad P. (2006). Antimicrobial activity of *Rauvolfia tetraphylla* and *physalis minima* leaf and callus extracts. Afr.J Biotechnol. **5** suppl 10: 946-950.

O

Oumaskour K, Boujaber N, Etahiri S et Assobhei O. (2012). Screening of antibacterial and antifungal activities in green and brown algae from the coast of Sidi Bouzid (El Jadida, Morocco). African Journal of Biotechnology ,**11** suppl 104 :16831-16837.

O'Sullivan AM, O'Callaghan YC, O'Grady MN, Hayes M et Kerry, J.P. (2013).the effect of solvents on the antioxidant activity in Caco-2 cells of Irish brown seaweeds extracts prepared using accelerated solvents extraction (ASE). *Journal of functional foods.* **5**, 940-948.

Onofrejova L, Vasickova J, Klejdus B, Stratil P, Misurcova L, Kracmar S, Kopecky J et Vacek J. (2010). Bioactive phenols in algae : the application of pressurized-liquid phase extraction techniques. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis.* **51**, 464-670.

P

Plaza M, Cifuentes A et Ibanez E. (2008). In the search of new functional food ingredients from algae. *Trens in food science and technology.***19**, 31-39.

Plaza M, Santoyo S, Jaime J, Reina GB, Herrero M, Senoràns FJ, Ibàñez E. (2010). Screening of bioactive compounds from algae. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* **51**, 450–455

Pérez R. (1997). Ces algues qui nous entourent. Conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisation, culture. Edition ifremer. Plouzané. 272p.

Person J. (2010). Livre turquoise : algues,filliere du futures. Edition Adebiotech. Romainville. pp :50 -163.

R

Richards JT, Kern ER, Glasgow LA, Overall JC, Deign EF, Hatch MT. (1978). Antiviral activity of extracts from Marine algae. *Antimicrobial Agents Chemother.* **14** suupl 1: 24-30.

Reichelt J L., et Borowitzka MA. (1983). Antimicrobial activity from marine algae: results of a large-screening programme. *Proc. Int. Seaweed Symp.* **11**, 158 - 168.

S

Sabeena Farvin KH et Jacnbsen C. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry.* **138**, 1670–1681.

Salgeira-gonzàlez N, Turnes-Carou I, Muniategui-Lorenzo S, Lopez Mahia P, Prada-Rodriguez D. (2012). Fast and selective pressurized liquis extraction with qimultaneous in

cell clean up for the analysis of alkylphenols and bisphenol A in bivalve molluscs. *Journal of Chromatography A*. **1270**, 80-87.

Salvador N, Gomez Garreta A, Lavelli L et Ribera M. (2007). Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marin*, **71** suppl 1 : 101-113.

Samarakoon K et Jeon YJ. (2012). Bio-functionalities of proteins derived from marine algae – a review. *Food Research International*. **48**, 948-960.

Se-kwon K et Isuru W. (2010). Development and biological activities of marine-driven bioactive peptides: a review. *Journal Of Functional Food*, **2**, 1-9.

Santoso, J, Yumiko, Y & Takeshi, S. (2004). Antioxidant activity of methanol extracts from Indonesian seaweeds in an oil emulsion model. *Fish Science*, **70**, 183-188.

Santoyo S, Rodriguez-Meizoso I, Cifuentes A, Jaime L, Garcia-Blairsy Reina G et Senorans Fj. (2009). Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. *LWT-Food science and technology*. **42**, 1213-1218.

Seenivasan R, Rekha M, Indu H, et Geetha S. (2012). Antibacterial activity and phytochemical analysis of selected seaweeds from Mandapam coast, India. *Journal of Applied Pharmaceutical science*. **2** suppl 10 :159-169.

Singelton P. et Sainsbury D. (1984). Bactériologie pour la médecine. La biologie et les biotechnologies. Edition Dunod . pp : 503-524.,

Sugiura Y, Matsuda K, Yamada Y0, Nishikawa M, Shioya K et Katsuzaki H. (2007). Isolation of a new anti-allergic phlorotannin, phlorofuocofuroeckol –B, from an edible brown algae, *Eisenia Arborea*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. **70**, 2807-2811.

T

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

Tuncel G. and Nergiz C. (1993). Antimicrobial effect of some olive phenols in laboratory medium. *Litters in Applied Microbiology*, **17**, 300-302.

Turney I, Cadirci BH, Nal D, Sukatar A. (2006). Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir, Turkey). *Turk J. Biol*, **30**, 171-175.

U

Umamaheswari R, Thirumaran G, Anantharaman P. (2006). Antibacterial activity of marine macro alga *Chaetomorpha aerea* collected from Vellar estuary. *Environ Ecol*. **24** suppl 2: 280-282.

V

Valls R, Piovetti L, et Praud A. (1993). The use of diterpenoids as chemotaxonomic markers in the genus *cystoseiraceae*. *Hydrobiol*. **260**, 549-556.

Van de Weghe P. (2012). **Les additives alimentaires (nutraceutique).** *Synthese Produit naturels*. Science chimique de rennes. p 47.

Vino AB, Shanmuga V et Shanmugam A. (2014). Antimicrobial activity of methanolic extract and fractionated polysaccharide from *Loligo duvauceli* Orbingy 1848 and *Doryteuthis sibogae* Adam 1954 on human pathogenic microorganisms. *African Journal of Microbiology Research*, **8** suppl 3, 230-236.

Vo TS, Ngo DH et Kim SK. (2012). Marine algae and a Potential pharmaceutical source of anti-allergic therapeutics. *Process Biochemistry*, **47**, 386-394.

W

Wang J, Zhang Q, Zhang Z, Song H, Li P. (2010). Potential oxidative and anticoagulant capacity of low molecular weight fucoidan fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International Journal of Biological Macromolecules*, **46**, 6-12.

Wijedinghe WAJP et You-Jin J. (2012). Enzyme-assisted extraction (EAE) of bioactive components : a useful approach for recovery of industrially important metabolites from seaweeds : a review. *fitoterapia*. **83**, 6-12.

X

Xu N, Fan X, Yan X, Li X, Niu R, Tseng CK. (2003). Antibacterial bromophenols from the marine red algae *Rhodomela confervoides*. *Phytochemistry*. **62**, 1221-1224.

Y

Ya Fang S, Sang Min K, Won jong L and Byung-hun, U.(2011). Pressurized liquid methode for fucoxanthin extraction from *Eusenis bicyclis* (Kjellman) Setchell. *Journal of bioscience and bioengineering*. **111** suppl 2 : 237-241.

Yeon-Hee K, Jeong Hwan K, Hyung-joo J et Si Young L. (2013). Antimicrobial activity of ethanol extract of *laminaria japonica* against oral micro-organisms. *Anaerobe*. **21**, 34-38.

Yuliana M, Tran-Thi NY, et Ju YH. (2012). Effect of extraction methods on characteristic and composition of Indonesian cashew nut shell liquid. *Industrial Crops and Products*. **35**, 230-236.

Z

Zubia M, Robledo d, et Freile-Pelegrin Y. (2007). Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of applied Phycology*. **19**, 449-458.

Annexes

Annexe I : Matériels et Produits utilisés

Appareillage :

Autoclave

Bain marie

Balance de précision

Etuve de 37C°

Four pasteur

pH mètre

Pied a coulisse

Plaques agitatrice

Plaque chauffante agitatrice

Spectrophotomètre UV-visible

Vortex

Produits chimiques :

Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20%

Eau physiologique (9g de Na cl dans un litre d'eau distillé)

Ethanol ($\text{C}_2 \text{H}_6 \text{O}$)

Folin-Ciocalteu

Tween 20

Annexe II : composition de milieux de culture utilisés(pour un litre)

(Guiraud, 1998)

Bouillon Mueller Hinton :

Peptone acide caséine17.50g

Infusion de viande bœuf..... .20g

Amidon1.5 g

pH= 7.4 0,2

Bouillon nutritif :

Peptone.....10g

Extrait de viande.....5g

Chlorure de sodium.....5g

pH = 7.2

Gélose Chapman :

Extrait de viande.....1 g

Peptone.....10g

Chlorure de sodium.....5g

Mannitol.....10g

Rouge ne phenol.....25g

Agar.....15g

pH = 7.4

Gélose Hecktoène:

Protéose peptone.....12g

Extrait de levure.....3g

Chlorure de sodium.....5g

Thiosulfate de sodium.....5g

Sels billiaire9g

Citrate de fer amoniacal..... 1.5g

Salicine..... 2g

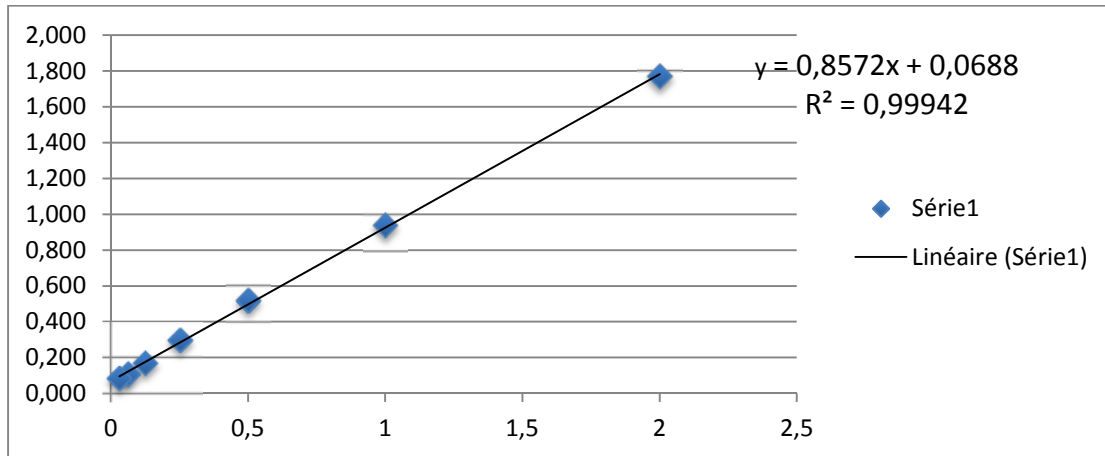
Lactose.....12g
Saccharose.....12g
Fishine acide.....0,1g
Bleu de bromothymol.....65mg
Agar.....13mg

pH = 7.6

Gélose Mueller Hinton :

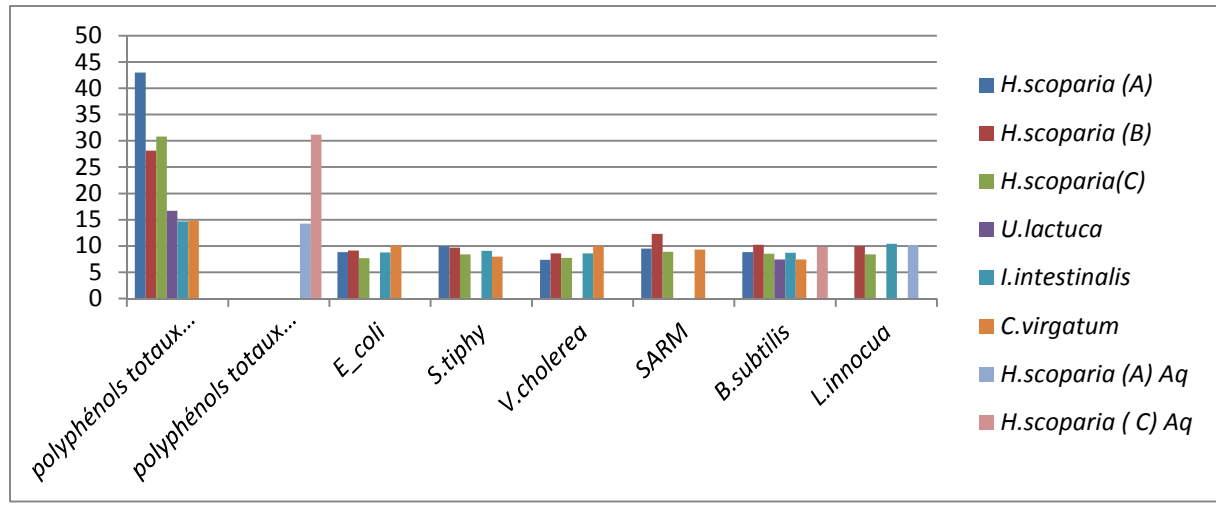
Extrait de viande2g
Hydrolysate acide de caseine....17,5g
Amidon.....1,5g
Agar.....10g

pH = 7.4

AnnexeIII courbe d'étalonnage de l'acide gallique**Figure 01** : courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux**Annexe IV : Resultats des diametre des zones d'inhibition obtenus**

		Diametre des zones d'inhibition en mm					
		<i>B.subtilis</i>	<i>SARM</i>	<i>L.innocua</i>	<i>S.Tiphy</i>	<i>E-coli</i>	<i>V.cholerae</i>
<i>Ulva intestinalis</i>	Ethanol/ Eau	8.7±0.22	0	10.4±0.44	9.1±0.1	8.75±0.6	8.57±0.07
	Eau	0	0	0	0	0	0
	Eau	0	0	0	0	0	0
<i>Halopteris Scoparia (C)</i>	Ethanol/ Eau	10,22±0.02	12.3±0,6	9.97±0.17	9.7±0.7	9.11±0.4	8.57±0.12
	Eau	9,8±0.4	0	0	0	0	0
<i>Halopteris Scoparia (A)</i>	Ethanol/ Eau	8.85±0.05	9.5±0.75	0	9.95±0.25	8.85±0.6	7.35±0.15
	Eau	0	0	10.15±0.25	0	0	0
<i>Ceranium virgatum</i>	Ethanol/ Eau	7.4±0.15	9.3±0.5	0	8±0.07	10,8±0.42	9.98±0.09
	Eau	/	/	/	/	/	/
<i>Halopteris Scoparia (B)</i>	Ethanol/ Eau	8,5±0.17	8,9±0.88	8.42±0.22	8.4±0.08	7.7±0.21	7.75±0.17
	Eau	0	0	0	0	0	0

Annexe VI : corrélation entre le taux de polyphénols totaux et l'activité antibactérienne des différents extraits



Annexe VI : matrices de corrélations

STAT. ELEMENT.	Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$ N=6 (Suppression des observ. à VM)					
Variable	E_COLI	S_TIPHY	VIBRIO	LISTERIA	SARM	BACILUS
E_COLI	1,00	,85	,73	,90	,80	,94
S_TIPHY	,85	1,00	,72	1,00	,55	,98
VIBRIO	,73	,72	1,00	,74	,37	,76
LISTERIA	,90	1,00	,74	1,00	,61	,99
SARM	,80	,55	,37	,61	1,00	,68
BACILUS	,94	,98	,76	,99	,68	1,00

Figure 1 : Corrélations significatives marquées à $P < 0,01$





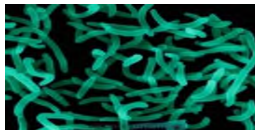

Suite...	Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$ N=6 (Suppression des observ. à VM)					
Variable	E_COLI	S_TIPHY	VIBRIO	LISTERIA	SARM	BACILUS
E_COLI	1,00	,85	,73	,90	,80	,94
S_TIPHY	,85	1,00	,72	1,00	,55	,98
VIBRIO	,73	,72	1,00	,74	,37	,76
LISTERIA	,90	1,00	,74	1,00	,61	,99
SARM	,80	,55	,37	,61	1,00	,68
BACILUS	,94	,98	,76	,99	,68	1,00

Figure 2 : Corrélations significatives marquées à $P < 0,001$

Suite...	Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$ N=6 (Suppression des observ. à VM)					
Variable	E_COLI	S_TIPHY	VIBRIO	LISTERIA	SARM	BACILUS
E_COLI	1,00	,85	,73	,90	,80	,94
S_TIPHY	,85	1,00	,72	1,00	,55	,98
VIBRIO	,73	,72	1,00	,74	,37	,76
LISTERIA	,90	1,00	,74	1,00	,61	,99
SARM	,80	,55	,37	,61	1,00	,68
BACILUS	,94	,98	,76	,99	,68	1,00

Figure 2 : Corrélations significatives marquées à $P < 0,05$

Tableau V: Caractères bactériologiques, biochimiques, et pouvoir pathogène des différentes souches bactériennes testées.

SOUCHES	Caractères morphologiques	Caractères biochimiques	Pouvoir pathogène	Références
<i>Bacillus subtilis</i> 	Bâtonnet, Gram+, mobile, sporulé	Catalase (+), Nitrate (+), mannitol (+), Glucose(+), gaz(+)	Pathogènes opportuniste, Isolé chez l'homme, lors d'endocardites, de pneumonies, de septicémies et bactériémies responsable de quelques cas de toxi-infections alimentaires	Singleton et sainsburry, (1984)
<i>Escherichia coli</i> 	Bacille, Gram (-), Asporulé, habituellement mobile	Lactose (+), glucose (+), indol(+), H ₂ S(-), uréase (+)	Hôte naturel du tube digestif de l'homme, à raison de 10 ⁷ -10 ⁹ UFC/mg de selles, provoque des infections urinaires, infections abdominales, infections intestinales.	Hart et shears, (2006)
SARM 	Coque , Gram(+), formant un amas, immobile, non sporulé, pigment caroténoïde	Coagulase (+), DNase (+), catalase (-), mannitol(+),uréase (+), nitrate(+)	Provoque plusieurs infections dont celle de la peau, des muqueuses, ainsi que des septicémies, et des toxi-infections alimentaires	Singleton et sainsburry , (1984)
<i>Salmonella tiphy</i> 	Bacille, Gram(-), Mobile,	Lactose (-), Gaz(-), glucose (-), H ₂ S (-)	Cause des septicémies (fièvre typhoïde et paratyphoïde), toxi-infection alimentaire, et rarement des infections urinaires, pulmonaires, et méningites	AVRIL et al., (1992)
<i>Vibrio cholerae</i> 	Bacille incurvé, Gram(-), mobile, halotolérant,	Glucose(+),gaz(-) , lactose(-), catalase (+), nitrate(+)	cause le cholera (maladie contagieuse), et est responsable de pathologie digestives :gastro-entérites, diarrhée	
<i>Listeria innocua</i> 	Petite bacille droite, Gram (+), non sporulé, non capsulé, , mobile entre 20-28C°	Nitrate(-), glucose (+), uréase(-), mannitol (-), lactose (+)	Pas de pouvoir pathogène connu	

Résumé :

L'objectif de ce travail, est d'évaluer l'activité antibactérienne de quatre extraits d'algue marine : *Ulva intestinalis*, *Ulva lactuca*, *Halopteris scoparia*, *Ceramium virgatum*, de la cote de Bejaia, obtenus par extraction de liquide sous pression (PLE) et ce vis-à-vis des différentes espèces bactériennes ayant une grande importance en industrie alimentaire. Les teneurs les plus élevées en composés phénoliques totaux sont obtenus par les extraits éthanol/eau pour les extraits d'algue brune à savoir : *Halopteris scoparia* (A) (42,97 mg Eq.AG/g de poudre sec), *Halopteris scoparia* (B) (30,79 mg Eq.AG/g d'extrait), *Halopteris scoparia* (C) (28,16 mg Eq.AG/g de poudre), les plus faibles teneurs en ces composés sont obtenus par l'extrait aqueux de *U.intestinalis* avec un taux de 9,85 mg Eq.AG/g. L'activité antibactérienne des extraits d'algues montre que la plus part des souches bactériennes testées sont sensibles aux extraits des quatre algues. Une activité antibactérienne modérée est notée pour les deux différents extraits de *Halopteris scoparia* (C) et (B), il n'y a pas de remarquable différence concernant la susceptibilité des Gram positif et Gram négatif vis-à-vis des différents extraits. Les algues brunes se sont avérées être les plus riches en composés bioactifs.

Mots clés : Algues marines-activité antibactérienne, polyphénols totaux composés bioactifs - PLE

Abstract:

The aim of the present study is to evaluate the antimicrobial activity of four extracts of seaweeds : *Ulva intestinalis*, *Ulva lactuca*, *Halopteris scoparia*, *Ceramium virgatum*, collected along the coast of Bejaia and obtained by using pressurized liquid extraction method (PLE) , against different microorganisms having a great importance in food industry .The highest levels of total phenolic compounds were obtained by the ethanol/water extract of the brown algae extract :*Halopteris scoparia* (A) (42,97 mg Eq.AG/ of dry extract) .The lowest levels of these compounds were obtained by the aqueous extract of *U.intestinalis* with 9.85 mg Eq.AG/g. The antimicrobial activity of the algae extracts shows that most tested bacterial strains were sensitive to the extracts from the four algae .A moderate antimicrobial activity was noted for both extracts of *Halopteris scoparia* (C) and (B). There is no notable difference in the susceptibility of Gram positive and Gram negative toward the various extracts. The brown algae have been found to be the richest in bioactive compound.

Keywords:

Seaweeds-antimicrobial activity- total phenolic contents- bioactive compounds- PLE