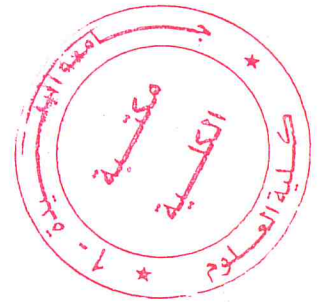


**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Blida 1**  
**Faculté des Sciences**  
**Département de Chimie**  
**Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et de Biomolécules**



Mémoire présenté par :

**KEBAILI SAFAA**  
**OTSMANE NESRINE**



**En vue d'obtenir le diplôme de Master**

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie des produits Naturels

**Thème**

**Etude des effets de synergisme de l'activité antimicrobienne d'extrait  
d'algues brunes**

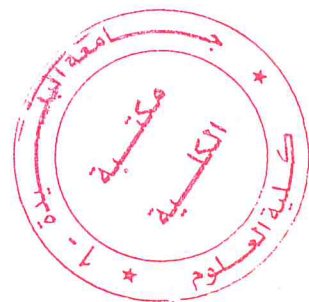
Soutenu publiquement le 10 juillet 2018 devant le jury composé de :

Touafek	MCA	Présidente	Université de Blida 1
Ferraji	MCB	Examinatrice	Université de Blida 1
M.R.Zahi	MCB	Promoteur	Université de Blida 1

**Promotion 2017-2018**

# sommaire

Remerciement	I
Dédicace	II
Dédicace	III
ملخص	V
Résumé	VI
Abstract	VII
Liste des abréviations	VIII
Liste des tableaux	X
Liste des figures	XI
<b>Introduction générale</b>	I
<b><u>I : synthèse bibliographique</u></b>	
<b>I.1 Généralité sur les algues</b>	3
I.1.1 Définition	3
I.1.2 Les phylums des algues	3
I.1.3 L'utilisation des algues	5
I.1.4 Les principaux constituants des algues	6
<b>I.2 Biologie des algues brunes du genre <i>Cystoseira</i></b>	6
I.2.1 Présentation de la famille des <i>Cystoseiraceae</i>	6
I.2.2 Les métabolites secondaires des <i>Cystoseiraceae</i>	7
I.2.3 Présentation du genre <i>cystoseira</i>	12
I.2.4 Généralités sur l'espèce <i>cystoseira tamariscifolia</i>	17
I.2.4.1 Description de l'espèce	17
I.2.4.2 Position systématique de <i>Cystoseira tamariscifolia</i>	17
I.2.4.3 Etude antérieure sur la composition chimique de <i>C.tamariscifolia</i>	18
I.2.5 Généralités sur l'espèce <i>cystoseira stricta</i>	19
I.2.5.1 Description de l'espèce	19



I.2.5.2	Position systématique de <i>cystoseira stricta</i>	20
I.2.5.3	Etude antérieure sur la composition chimique de <i>C.stricta</i>	20
<b>I.3</b>	<b>l'algue brune de genre <i>Dictyotale</i></b>	<b>21</b>
I.3.1	présentation de la famille des <i>Dictyotaceae</i>	21
I.3.2	Présentation de l'espèce <i>Dilophus spiralis</i>	22
<b>I.4</b>	<b>Généralité sur les bactéries</b>	<b>23</b>
I.4.1	Le rôle des bactéries	23
I.4.2	Les principaux agents antimicrobiens	24
I.4.2.1	Les antibiotiques	24
a.	Modes d'action des antibiotiques	24
b.	Classification des antibiotiques	24
I.4.2.2	Les extraits végétaux	25
I.4.3	Les bactéries	25
I.4.3.1	<i>Escherichia Coli</i>	25
I.4.3.2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
I.4.3.3	<i>Bacillus subtilis</i>	25
I.4.3.4	<i>Listeria monocytogenes</i>	25
I.4.4	Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits des plantes	26
<b>I.5</b>	<b>Définition de l'effet de synergisme</b>	<b>29</b>

## **II : partie expérimentale**

<b>II.1</b>	<b>Matériels</b>	<b>31</b>
II.1.1	Matériel végétale	31
II.1.2	Produits chimiques	33
II.1.3	Appareillage	33
II.1.4	Milieu de culture	33
<b>II.2</b>	<b>Méthodes</b>	<b>34</b>
II.2.1	préparation d'extrait de <i>Cystoseira Stricta</i> et <i>tamariscifolia</i> et <i>Dilophus spiralis</i> par macération	34
II.2.2	Etude de l'activité antibactérienne	37
II.2.2.1	Détermination de la concentration minimale inhibitrice	37
a-	souches microbiennes choisies	37

b-Repiquage des souches	37
c-Préparation et composition des milieux de culture	37
d-Préparation de l'inoculum (pré-culture)	38
<b>A) La méthode de la dilution en bouillon</b>	<b>39</b>
1-Préparation du milieu	39
2-Préparation des différentes concentrations des échantillons testés	39
3-Ensemencement des souches	39
4-l'incubation	39
<b>B) La dilution en gélose</b>	<b>40</b>
II.2.2.2 Test de synergismes	40
<b>II. 4 Résultats et discussion</b>	<b>42</b>
II.4.1 Caractéristiques organoleptiques des extraits brutes de <i>Cystoseira stricta</i> et <i>Cystoseira tamariscifolia</i>	42
II. 4.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice des échantillons testés	44
II.4.3 L'effet de synergisme	45
<b>Conclusion générale</b>	<b>47</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>48</b>
<b>Annexes</b>	



## REMERCIEMENT

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

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à :*

*Notre promoteur M. Réda ZAHÍ maître de conférence à l'université de Blida 1, qui à travers ses conseils et ses orientations, sa disponibilité et la confiance qu'il nous a accordé, nous avons conforté dans nos efforts et nous a permis d'avancer à pas constant et à accomplir ce modeste travail.*

*Nous adressons encore notre remerciement à Monsieur le professeur M. ELHATTAB pour son dévouement incomparable, et pour la confiance qu'il nous a accordé pour mener à bien ce projet dans son laboratoire « Chimie de Substances Naturelles et de Biomolécules (LCSN-BioM) » de l'Université de Blida 1.*

*Nous remercions le docteur Mme Touafek Ouassila, la responsable de master de chimie des produits naturels.*

*Nous adressons aussi mes sincères remerciements à tous les professeurs et les enseignants de la faculté des sciences de l'université de Blida 1 pour leurs efforts et encouragement le long de ce master.*

*Nous adressons encore notre remerciement aux membres de jury d'avoir accepter de juger ce travail,*

*Nous remercions aussi les doctorantes et l'ingénieur de laboratoires pour leur gentillesse et leur soutien.*

*Un grand merci au M<sup>elle</sup> Riad Nacera pour leur disponibilité,*

*Sa patience et sa gentillesse*

*Enfin, nous tenons à exprimer ses sincères remerciements à tous ceux qui ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail surtout mes amis de l'étude.*

## DÉDICACE

*Je dédie ce modeste travail :*

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

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.*

*A mes sœurs : MAROULA ET RIYAM*

*A mon frère : MOHAMED MONCEF*

*Pour leurs affection et leurs soutien Ils me sont très chères ;*

*A mon binôme NESRINE : je remercie pour tous les bons moments et les beaux souvenir que nous avons eu ensemble.*

*A mes très chères amies*

*Je dédie ce travail à toute notre préparation, les jours et les nuits blanches, nos larmes et nos fous rires, nos déceptions et nos éclats de joie. A notre belle amitié.*

*Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.*

*Et a toutes les personnes qui m'aiment et que je les aime aussi.*

SAFAA



## DÉDICACE

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...  
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, L'amour, Le respect,  
La reconnaissance...*

*Aussi, c'est tout simplement que*

*Je dédie ce modeste travail à ceux qui sont chère,*

*A ma chère maman, A mon cher père*

*Ma mère, qui est la meilleure maman dans ce monde.  
Pour son sacrifice, son amour, sa tendresse, son soutien et ses prières  
tout au long de mes études.*

*Que Dieu tout puissant te garde et te procure santé, bonheur et longue  
vie pour que tu demeures le flambeau illuminant le chemin de tes  
enfants.*

*Mon père, *اسأل الله ان يرحمه و يدخله فسيح جناته* qui je n'ai pas vu,  
J'espère avoir répondu aux espoirs que ta fondés en moi.*

*A mes très chères sœurs*

*Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien  
moral,*

*Je vous souhaite la réussite dans votre vie, avec tout le bonheur qu'il  
faut pour vous combler.*

*A mes très chers frères*

*Pour leur appui et leur encouragement,  
Que Dieu tout puissant jouit votre vie, vous combler d'avantage, vous  
apporter bonheur, et vous aider à réaliser tous vos voeux*

*A ma très chère et adorable amie et sœur « Safaa »*

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.*

*Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers toi. Je te souhaite la réussite dans ta vie privée et professionnelle.*

*Et je le dédie aussi à toute ta famille, surtout ta grande sœur pour leur précieux conseils et leur aide à la réalisation de ce travail,*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.*

*A ma chère grand mère « زهور »*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer tout ce que je ressens pour vous. Je vous remercie pour tout le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.*

*"الله يشفيك"*

*À MES CHÈRES ONCLES, TANTES, LEURS ÉPOUX ET  
ÉPOUSE*

*A MES CHÈRES COUSINS COUSINES*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère*

*A mes amis et collègues*

*Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.*

*Nesrine*



## ملخص

يهدف عملنا لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات الطحالب البنية سيستوزيرا ستريكتا *Cystoseira stricta* وسيستوزيرا تمر سيفوليا *Cystoseira tamariscifolia* و ديلوفيس سيراليس *Dilophus spiralis*. كما يهدف ايضا لتقييم التأثير التآزري (Synergisme) بين هذه المستخلصات.

تم الحصول على المستخلصات عن طريق النقع البارد (macération a froid) فقدر المرودود %0.51, %0.97, %0.65 لكل من سيستوزيرا ستريكتا، سيستوزيرا تمر اسيفوليا، ديلوفيس سيراليس على التوالي.

تم تحديد نشاط مضادات البكتيريا من خلال طريقة dilution en gélose ضد سلالتين من البكتيريا الايجابية و سلالتين من البكتيريا السالبة. وقد اظهرت نتائج CMI التي تتراوح ما بين 0.25 الى 12 مل/م ان المستخلصات الثلاثة لها نشاط جيد ضد البكتيريا المدروسة. بالإضافة الى ذلك فان تأثير Synergisme غير موجود بين المستخلصات المستعملة على عكس ذلك فان تأثيرات الاضافة Addition و التضاد Antagonisme موجودة.

الكلمات المفتاحية :

نشاط مضادات البكتيريا ., *Cystoseira stricta* , *Cystoseira tamariscifolia*, *Dilophus spiralis*

التأثير التآزري، مستخلص نباتي

## Résumé

Notre travail vise à évaluer l'activité antibactérienne des extraits des algues brunes *Cystoseira stricta*, *Cystoseira tamariscifolia* et *Dilophus spiralis*. Et ainsi que l'évaluation de l'effet de synergisme entre ces extraits.

Les extraits ont été obtenus par macération à froid, les rendements obtenus sont 0,51 %, 0,97%, et 0,65% pour *Cystoseira stricta*, *Cystoseira tamariscifolia* et *Dilophus spiralis* respectivement.

L'activité antibactérienne a été déterminée par le procédé de dilution en gélose contre deux souches de Gram-positif et deux souches de Gram-négatif. La gamme des CMI obtenu était entre 0,25 et 12mg/ml des trois extraits contre les souches testées montrent une bonne activité antibactérienne. On outre, l'effet de synergisme était absent entre les extraits utilisés, par contre les effets d'additions et d'antagonisme ont été trouvés.

**Mots clés :** Activité antibactérienne, *Cystosiera tamariscifolia*, *Cystoseira stricta*, *Dilophus spiralis*, Synergisme, Extrait végétale.

## Abstract

The overall objective of this work is to evaluate antibacterial activity of extracts of the brown algae *Cystoseira stricta*, *Cystoseira tamariscifolia* and *Dilophus spiralis*. And as well as the evaluation of the synergistic effect between these extracts.

The extracts were obtained by cold maceration, the yields obtained were 0.51%, 0.97%, and 0.65% for *Cystoseira stricta*, *Cystoseira tamariscifolia* and *Dilophus spiralis* respectively.

Antibacterial activity was determined by the agar dilution method against two Gram-positive strains and two Gram-negative strains.

The range of MICs obtained was between 0.25 and 12 mg / ml of the three extracts against the strains tested, showing a good antibacterial activity. In addition, the synergistic effect was absent between these extracts. However the effects of addition and antagonism were found.

**Key word :** Antibacterial activity, *Cystosiera tamariscifolia*, *Cystoseira stricta*, *Dilophus spiralis*, synergistic, Vegetable extract.

# Liste des abréviations

% : Pourcentage.

**A :**

ATCC : American Type Culture Collection.

**C :**

Ca : Calcium.

Cm : Centimètre.

°C : Degré Celsius.

C : Concentration.

CMI : Concentrations Minimales Inhibitrices.

C.stricta : *Cystoseira stricta*.

C.tamariscifolia : *Cystoseira tamariscifolia*.

**D :**

DMSO : Dimethyl Sulfoxyde.

D.spiralis : *Dilophus spiralis*

**F :**

Fe : Fer.

Fig : Figure.

FPP : farnésyl pyrophosphate.

**G :**

g : gramme.

GFPP : Géranylfarnésyl Pyrophosphate.

GPP : Géranyl Pyrophosphate.

GGPP : Géranylgéranyl Pirophosphate.



**H :**

h : heure.

**I :**

I : Iode.

IPP : Isopentényl-pyrophosphate.

**K :**

K : potassium.

**M :**

M : Molaire.

mg: milligramme.

Mg : Magnésium.

MgSO<sub>4</sub> : Sulfate de magnésium.

MH : Mueller Hinton.

min : minute.

ml : millilitre.

mm : millimètre.

**N :**

Na : Sodium.

Na Cl : Chlorure de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

**P :**

PH : Potentiel Hydrogène.

**R :**

Rmoy : Rendement moyen.

# Liste des tableaux

<b>Tableau I.1</b> : Classification des algues selon la nature des pigments et les réserves cellulaires	5
<b>Tableau I.2</b> : les principaux constituants des algues	6
<b>Tableau I.3</b> : Distribution des genres de la famille des <i>Cystoseiracées</i>	6
<b>Tableau I.4</b> : les <i>Cystoseires</i> de Méditerranée	13
<b>Tableau I.5</b> : les principales familles des antibiotiques	25
<b>Tableau II.1</b> : Souches utilisées dans le test antibactérien	37
<b>Tableau II.2</b> : Propriétés organoleptiques des extraits bruts de <i>Cystoseira stricta</i> , <i>Cystoseira tamariscifolia</i> et <i>Dilophus spiralis</i>	42
<b>Tableau II.3</b> : Le rendement des extraits	43
<b>Tableau II.4</b> : Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des échantillons testés	44
<b>Tableau II.5</b> : Résultats de la combinaison de <i>C.stricta</i> avec <i>C.tamariscifolia</i>	46
<b>Tableau II.6</b> :Résultat de combinaison entre <i>C.tamariscifolia</i> et <i>D.spiralis</i>	46

# Liste des figures

<b>Figure I.1</b> : Description des différentes classes de terpène (IPP= Isopentényl-pyrophosphate)	8
<b>Figure I.2</b> : Les stérois majoritaires isolés d'algues brunes de la famille <i>Cystoseiracée</i>	12
<b>Figure I.3</b> : différentes classes des méroditerpenes	15
<b>Figure I.4</b> : <i>Cystoseira Tamariscifolia</i>	17
<b>Figure I.5</b> : <i>Cystoseira Stricta</i>	20
<b>Figure I.6</b> : <i>Dilophus.spiralis</i>	22
<b>Figure I.7</b> : Le principe de la méthode de diffusion sur disque	27
<b>Figure I.8</b> : principe de dilution en bouillon (macro et microdilution)	28
<b>Figure I.9</b> : principede La dilution en gélose	29
<b>Figure II.1</b> : localisation géographique du site de récolte	31
<b>Figure II.2</b> : algue brune <i>C.Tamariscifolia</i>	31
<b>Figure II.3</b> : algue brune <i>C.stricta</i>	32
<b>Figure II.4</b> : algue brune <i>D.spiralis</i>	32
<b>Figure II.5</b> : La macération des algues	34
<b>Figure II.6</b> : Flacon d'extrait brute <i>C.stricta</i>	35
<b>Figure II.7</b> : Flacon d'extrait brute <i>C.tamariscifolia</i>	35
<b>FigureII.8</b> : Flacon d'extrait brute <i>D.spiralis</i>	35
<b>Figure II.9</b> : Méthodologie expérimentale de l'extraction	36
<b>Figure II.10</b> : milieu nutritif liquide	38
<b>Figure II.11</b> : le milieu gélosé MH	38
<b>Figure II.12</b> : la pré-culture des 4 souches	38
<b>FigureII.13</b> : les dilutions d'un extrait avec le milieu MH dans l'étuve	40
<b>FigureII.14</b> :Les tubes de dilution en bouillon	44



### Introduction générale :

L'environnement marin est un écosystème unique en raison de la diversité des organismes qu'il abrite. Parmi ses organismes, les algues font preuve d'une incroyable richesse. De nouvelles espèces sont identifiées perpétuellement et des projections estimaient que les 36 000 espèces qui sont déjà répertoriées ne représentaient en fait que 17% des 200 000 espèces supposées existantes [1].

L'Algérie est un pays avec une face maritime s'étalant sur 1200 Km, ce qui implique l'existence de milliers d'espèces marines particulièrement les algues qui présentent une biomasse très importante.

D'après la nature des pigments, les algues sont divisées en 4 groupes :

Les cyanophytes ou algues bleues très abondant dans les eaux douces Africaines ;

Les chlorophytes ou algues verts la majorité vivent dans les eaux douces ;

Les chrysophytes ou chromophytes ou algues brunes, et les rhodophytes ou algues rouges [2]. Ces couleurs correspondent à la présence de différents pigments photosynthétiques. Le vert est la couleur de la chlorophylle, un pigment présent chez toutes les plantes. Son rôle consiste à transformer l'énergie du soleil pour réaliser la photosynthèse. Le brun et le rouge, pour leur part, proviennent de pigments surnuméraires qui ont pour rôle de capter l'énergie du soleil et de la diriger vers la chlorophylle [3].

La classe des *Chromophycées* est la plus riche en espèces actives (85%) suivie par la classe des *Chlorophycées* (40%) et les *Rhodophycées* (38%)[4].

Les *Cystoseiracées* sont des algues brunes faisant partie de la classe des *Phéophycées* et de l'ordre des *Fucales*. Cette famille constitue plusieurs genres : *Cystoseira*, *Bifurcaria*, *Cystophora*, *Halidrys* [5].

Le genre *Cystoseira* est connu par sa répartition mondiale avec environ 80% des espèces présentes le long de la Méditerranée et des côtes atlantiques adjacentes [5].

Les *Dictyotacées* sont des algues brunes généralement répandues dans les eaux tropicales et subtropicales faisant partie de la classe des *Phéophycées* et de l'ordre des *Dictyotales* [6].

L'objectif principal de ce projet était l'étude de l'activité antibactérienne d'extrait de trois espèces : *Cystoseira stricta*, *Cystoseira tamariscifolia* et *Dilophus spiralis*, et l'évaluation de l'effet de synergisme.

Ce travail est subdivisé en deux parties :

La première est un aperçu général sur les algues notamment les algues brunes du genre *Cystoseira* et *Dictyotale*.



## Introduction générale

La deuxième partie est réservée à une étude expérimentale sur l'activité antibactérienne des extraits et aussi le test de synergisme.

# SHYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Dans cette partie bibliographique, nous aborderons les axes suivants :

- Généralités sur les algues.
- Biologie des algues brunes du genre *Cystoseira*.
- Généralités sur l'algue brune du genre *Dictyota*.
- Généralités sur les bactéries, et à la fin définition de l'effet de synergisme.

### I.1 Généralité sur les algues

#### I.1.1 Définition

Les algues sont des organismes chlorophylliens, elles se trouvent dans les eaux des mers, des lacs, des mares, des eaux courantes et des eaux thermales. Leur développements nécessite la présence d'air, la lumière et des sels dissous dans l'eau.

Les algues constituent un nombre très vaste d'embranchements qui sont distinctes à partir des caractères d'ordre cytologique et biochimique ainsi que différences structures. Elles englobent plus de 1100 genres et environ 14000 espèces répartis dans le monde [2].

Il y a des algues annuelles de durée de vie entre une semaine jusqu'à 14 mois, et autre pérennantes entre 2 ans et 4 ans, sauf les espèces (*Laminaria*, *Ascophyllum*, *Cystoseira*) qui peuvent vivre de 12 ans jusqu'à 20 ans [7].

#### I.1.2 Les grandes phylums des algues

D'après la nature des pigments, les algues sont divisées en 4 grandes phylums (ou groupes). Chaque phylum contient des classes :

- **Les Cyanophytes** : (algues bleues), ce sont des procaryotes, ne possèdent pas de noyau à membrane définie, ni de chromatophores, ni formes flagellée, très abondant dans les eaux douces Africaines.

Leur réserve cellulaire est constituée par un corps proche du glycogène. Elles donnent une coloration acajou avec l'iode [2].

- **Les Chlorophytes** : (algues verts), sont des eucaryotes à noyau bien individualisé, les réserves sont constituées d'amidon intraplastidial prennent une teinte bleue au contact d'iode. Elles possèdent 2 ou 4 flagelles de même taille.

Les Chlorophytes occupent environ 600 genres et plus de 800 espèces, la majorité vivent dans les eaux douces [2].

- **Les Chrysophytes ou Chromophytes** : (algues brunes) [8], elles ne possèdent pas d'amidon et sont caractérisées par des chromophores bruns, jaunes ou vert-jaunâtres. Elles possèdent de nombreuses formes flagellées à deux fouets inégaux [2].

Les Chrysophytes se divisent en cinq classes :

- 1- Les Chrysophycées : sont des organismes unicellulaires ou coloniaux, rarement filamenteux, à plastes jaunes ou bruns [2].
  - 2- Les Xanthophycées : à plastes vert-jaune ou vert à peine jaunâtre, elles sont caractérisées par l'absence des pigments bruns et l'amidon. Cette classe possède une teinte très proche de celle des Chlorophytes [2].
  - 3- Les Diatomées ou Diatomophycées ou Bacillariophycées : des algues unicellulaires ou coloniales, par fois filamenteuses à plastes bruns ou jaunes. Leurs parois cellulaires imprégnées de silice forment une frustule (c'est une logette bivalve ; ces deux valves sont ornementées de stries, aiguillons, épines) [2].
  - 4- Les Phéophycées : sont des algues marines, bruns, filamenteuses ou thalloïdes, pas unicellulaires. Elles possèdent des plastes bruns, leur matière de réserve consiste en laminarine et en mannitol [2].
  - 5- Les Raphidophycées ou Ghloromadophycées : des formes unicellulaires, solitaires, nageant à l'aide de deux flagelles de taille inégale [2].
- **Les Rhodophytes** : (algues rouges) des algues marines, leurs matières de réserve constituent rhodomyton ou (amidon floridéen), elles prenant une teinte rougeâtre au contact d'iode [2].



Tableau I.1 : Classification des algues selon la nature des pigments et les réserves cellulaires [2].

Embranchement	Réserve cellulaire	Pigments			Nom commun
		Chlorophylle	Biliprotéine	Caroténoïde	
Cyanophytes	Glycogène	a, c	Phycocyanine Phycoérythrine	$\beta$ -carotène xanthophylles	Algues bleus
Chlorophytes	Amidon intraplasmidial	a, b	-	$\alpha$ -carotène $\beta$ -carotène xanthophylles	Algues vertes
Chromophytes	Pas amidon	a, c	-	$\beta$ -carotène xanthophylles	Algues brunes
Rhodophytes	Rhodamylon (amidon floridée)	a, d	Phycocyanine Phycoérythrine	$\alpha$ -carotène $\beta$ -carotène xanthophylles	Algues rouges

### I.1.3.L'utilisation des algues :

Les algues sont les plus petits et les plus grands végétaux sur la planète. Leurs dimensions varient entre quelque millièmes de millimètres et quelque centaines de mètres. A partir de leur composition, les algues présentent une certaine utilité dans :

- La médecine : certaines espèces sont utilisées pour guérir l'obésité et d'autres sont employées sous forme d'un mélange pour leurs qualités vermifuges, en chirurgie pour produire des dilatations.

Des études épidémiologiques asiatiques montrent que les polysaccharides plus ou moins sulfatés, minéraux et oligoéléments, protéines et métabolites secondaires (polyphénols, caroténoïdes, stérols, bêtaïnes) présents dans les algues ont des effets contre le cancer du sein, du colon, et de la prostate [7].

- L'agriculture : ces organismes sont considérés comme meilleur engrais.

- L'alimentation : l'utilisation des algues comme produits culinaires est très grande dans les régions d'extrême orient surtout en Japon, Chine et aussi en l'Europe, l'Amérique du sud [2].

- La pharmacie : les algues sont des sources très importantes des métabolites secondaires bioactifs qui rentrent dans le développement des agents pharmaceutiques nouveaux [9].

### I.1.4. Les principaux constituants des algues

Les algues représentent une source végétale de différents composés essentiels comme fibres, minéraux protéines, et aussi des métabolites secondaires qui ont des propriétés anti oxydantes et anti radicalaires. Quelques exemples sont cités dans le tableau suivant :

Tableau I.2 : les principaux constituants des algues [10].

Composé	Quantité
Fibres	33-61%
Minéraux (Ca, Mg, Na, K, P, I, Fe, Zn, etc.....)	36% du poids sec.
Vitamines (B12)	Teneurs assez importantes
Protéines (algues rouges)	30-40% du poids sec.
Poly phénols (algues brunes, rouges)	5-15% de la matière sèche.
Caroténoïdes (algues brunes, rouges, verts)	Teneurs importantes
Lipides	1-5% de la matière sèche.

## I.2 Biologie des algues brunes du genre *Cystoseira*

### I.2.1 Présentation de la famille des *Cystoseiraceae*

Les *Cystoseiracées* sont des algues brunes faisant partie de la classe des *Phéophycées* et de l'ordre des *Fucales*. cette famille constitue plusieurs genres : *Cystoseira*, *Bifurcaria*, *Cystophora*, *Halidryx*, *Hormophysa*, *Landsburgia*, *Myriodesma*, *Scabera* et *Stolonophora* [5]. La répartition actuelle des espèces de *Cystoseiraceae* dans les mers et les océans est indiquée dans le tableau I.3.

Tableau I.3 : Distribution des genres de la famille des *Cystoseiracées* [11].

Genres	Nombre d'espèces	Distribution
<i>Acrocarpia</i>	2	Endémique en Australie
<i>Acystis</i>	1	Endémique d'Aden
<i>Bifurcaria</i>	3	Afrique du Sud. Europe (ouest) – Galapagos
<i>Bifurcariopsis</i>	1	Endémique en Afrique du Sud
<i>Carpoglossum</i>	1	Endémique en Australie
<i>Caulocystis</i>	2	Endémique en Australie



<i>Coccophora</i>	1	Endémique au Japon, Corée
<i>Cystophora</i>	25	Australie- New Zélande- Antarctique
<i>Cystophyllum</i>	10	Afrique (Est) -Japon- indonésie-Pacifique- Australie Sauf Antarctique.
<i>Cystoseira</i>	57	
<i>Halidrys</i>	2	California-l'Europe (Nord ouest)
<i>Hormophysa</i>	1	Afrique (Est)-Mer rouge- Inde- Australie
<i>Landsburgia</i>	2	Endémique en New Zélande
<i>Myagropsis</i>	1	Endémique au Japon, Corée
<i>Myriodesma</i>	8	Endémique en Australie
<i>Platythalia</i>	2	Endémique en Australie
<i>Scaberia</i>	1	Endémique en Australie
<i>Stolonophora</i>	1	Endémique de la Guadeloupe

### I.2.2 Les métabolites secondaires des *Cystoseiraceae*

D'un point de vue chimique, les espèces issues de la famille des *Cystoseiraceae* se distinguent par une production riche en métabolites secondaires. Ces métabolites sont majoritairement des terpènes et des stéroïdes [11].

1) Les terpènes : qui peuvent être classés en deux groupes

a) les terpènes dont la formule générale découle de  $(C_5H_8)_n$ , et qui sont constitués d'une ou plusieurs unités isopréniques. Ces substances sont obtenues à partir du métabolisme des précurseurs bien définis. En fonction du nombre de ces unités, on note :

- les monoterpènes (C10) dérivant du géranyl pyrophosphate (GPP).
- les sesquiterpènes (C15) provenant du farnésyl pyrophosphate (FPP).
- les diterpènes (C20) ayant comme précurseur le géranyl-géranyl diphosphate (GGPP).
- les sesterpènes (C25) dérivant du géranyl-farnésyl pyrophosphate (GFPP).
- les triterpènes (C30), les tétraterpènes et caroténoïdes (C40) (Figure I.1).

b) Les terpènes à biogénèse mixte dites "méroterpènes" comprenant un noyau méthylhydroquinonique plus ou moins substitué sur lequel est fixée une chaîne latérale terpénique souvent oxygénée. Ces composés peuvent être linéaires (chaîne latérale terpénique linéaire), cyclisés (chaîne latérale contenant un ou plusieurs cycles carbonés) (Figure I.3) [11]

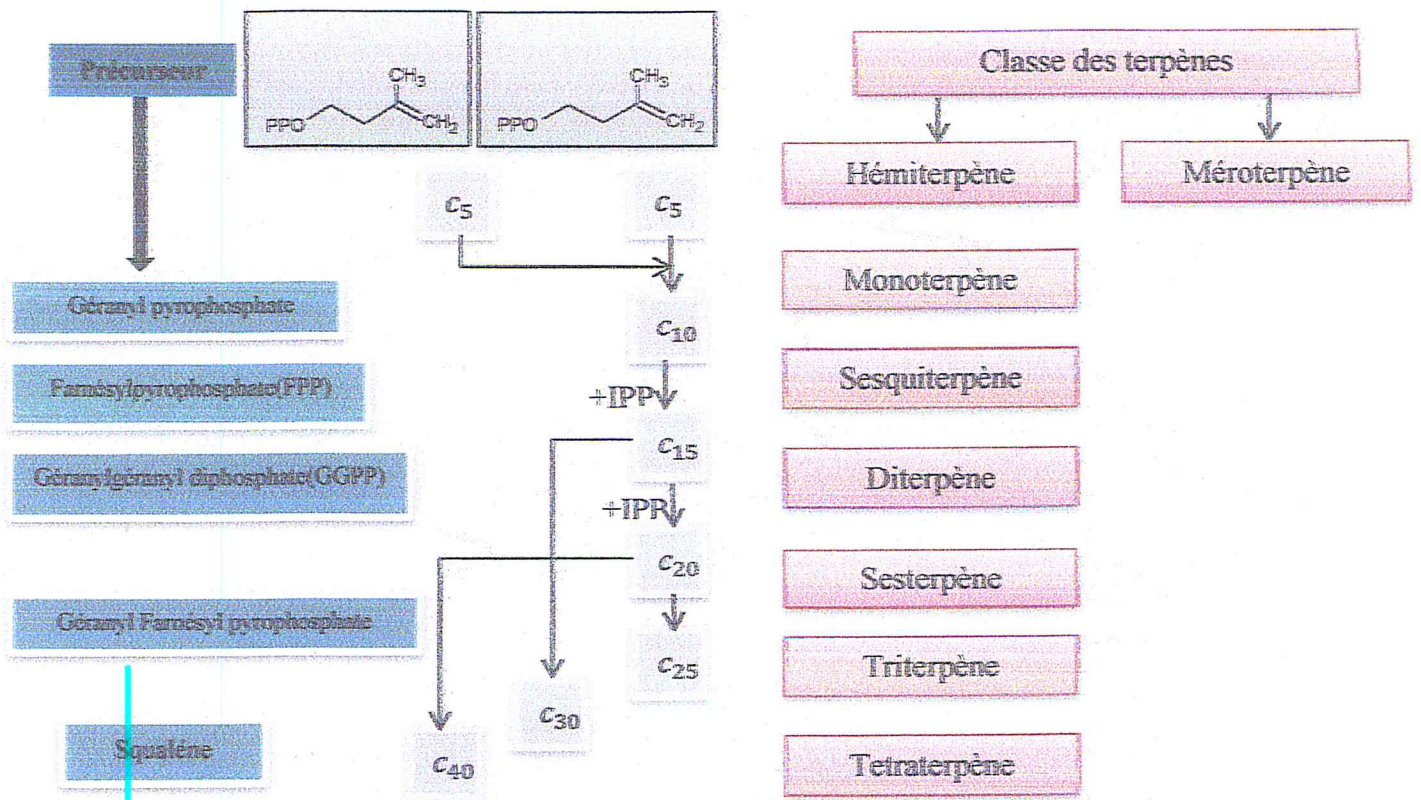
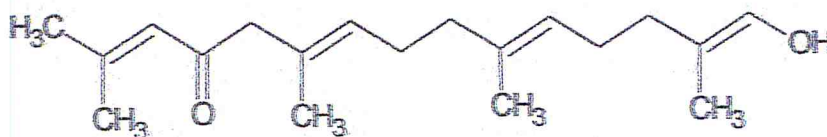


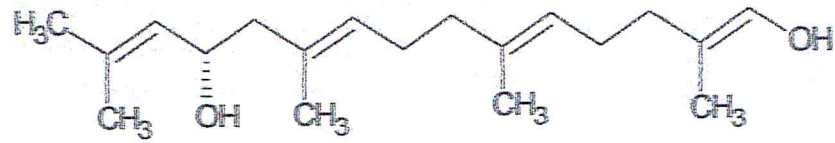
Figure I.1 : Description des différentes classes de terpène (IPP= Isopentényl-pyrophosphate).

Les *Cystoseiraceae* contiennent majoritairement des diterpènes linéaires comme : crinitol chez *Cystoseira crinita* ; Eleganediol et Epoxyeleganolone chez *Bifurcaria bifurcata* [11].

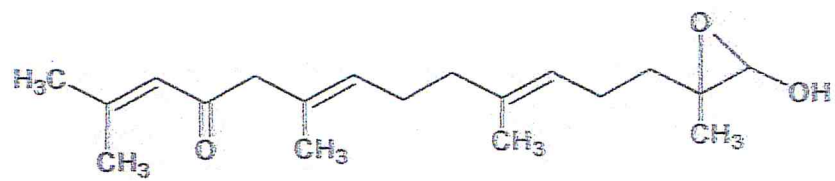


Géranyl géraniol

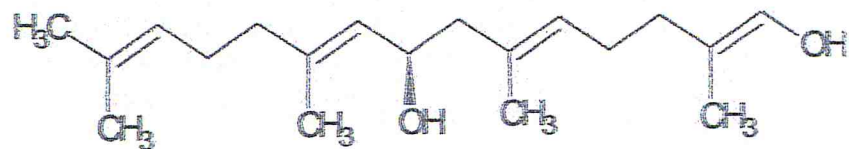




Eleganediol



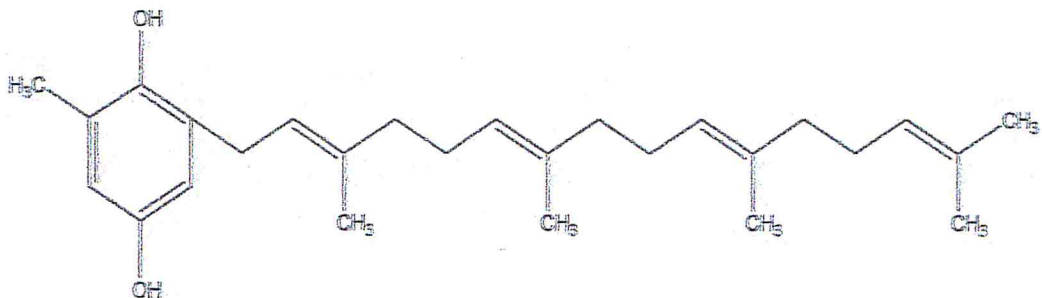
Epoxyeleganolone



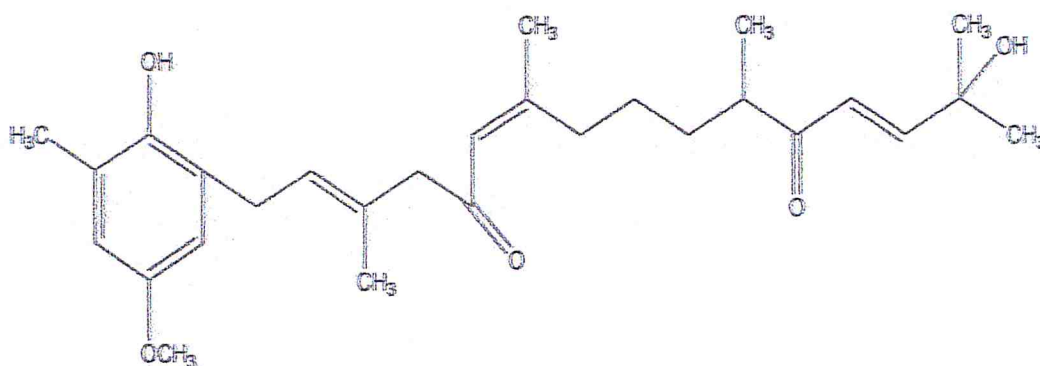
Crinitol

On distingue aussi pour cette famille 4 types de mérodiaterpènes :

- 1- Les mérodiaterpène lineaire : comme : 2- (Géranylgéranyl)-6-méthyl - 1,4-benzohydroquinone qui ont été isolé à partir de *Stypopodium zonale* ;
- Tetraprenyltoluquinol qui est isolé à partir de *C.tamariscifolia* [11].

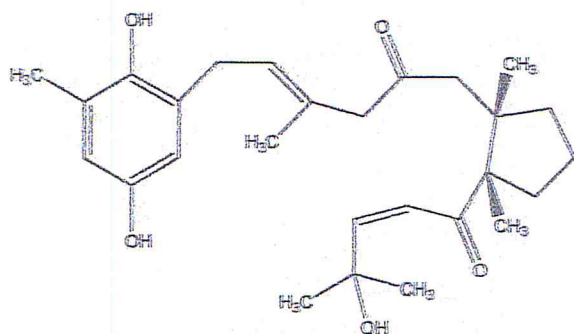


2- (Géranylgéranyl)-6-méthyl - 1,4-benzohydroquinone

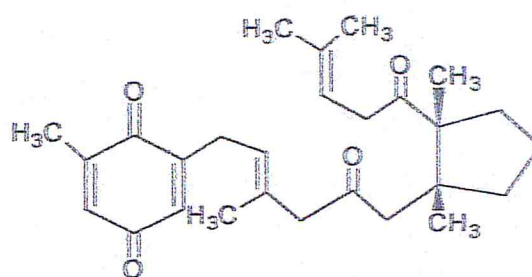


Tetraprenyltoluquinol (I)

2- Les méroditerpènes monocycliques : comme ; Bifurcarenone (R=H) qui est isolé à partir de *C.tamariscifolia* ; Strictaepoxide qui on est isolé à partir de *C. jabukae* [11].

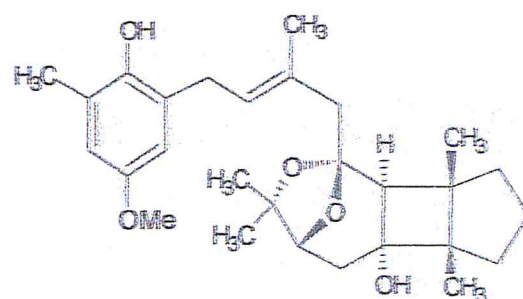


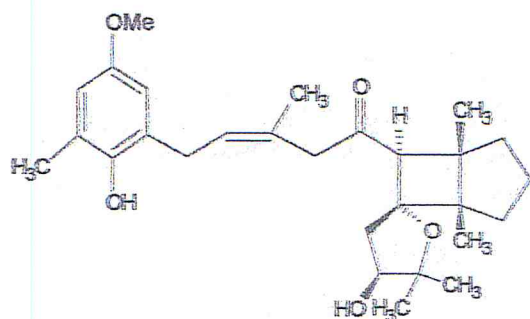
Bifurcarenone (II)



Strictaepoxide

3- Les méroditerpènes bicycliques : comme :Balearone qui est isolé à partir de *C. stricta* et *C.tamariscifolia* ; Strictaketal qui est isolé à partir de *C. stricta* et *C.tamariscifolia* [11].

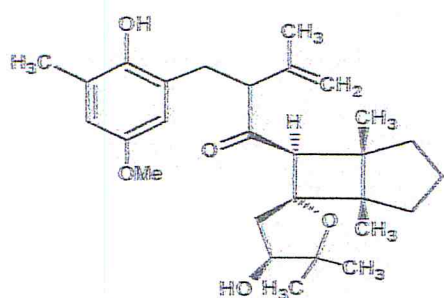




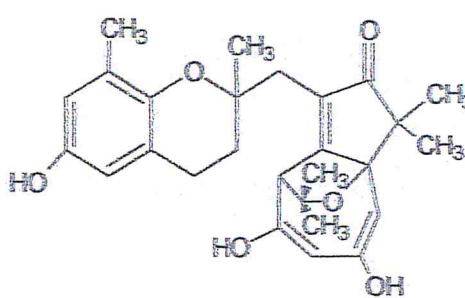
Balearone (III)

Strictaketal (IV)

4- Les méroditèrpenes de réarrangement : comme : Neobalearone qui est isolé à partir de *C. stricta* et *C. tamarascifolia* ; Medetirraneole qui est isolé à partir de *Cystoseira mediterranea* [11].



Neobalearone (V)



Méditeranéole E (VI)

## 2) Les stérols :

Les stérols sont des alcools polycycliques partiellement insaturés universellement répandus dans les cellules vivantes animales et végétales. Ils ont eu plusieurs rôles, et en particulier ceux des composants de membranes cellulaires, d'hormones et de précurseurs d'hormones, précurseurs de stéroïdes, d'agent de croissance, d'inhibiteur ou activateur de la croissance des plantes [11].

Les études antérieures sur les stérols des algues ont montré que tous les lots d'algues brunes de la famille des *cystoseiracées* étudiés présentent qualitativement les mêmes stérols, à savoir le cholestérol, le fucostérol, le  $\Delta^5$ -avénastérol, le  $\beta$ -sitostérol [11].

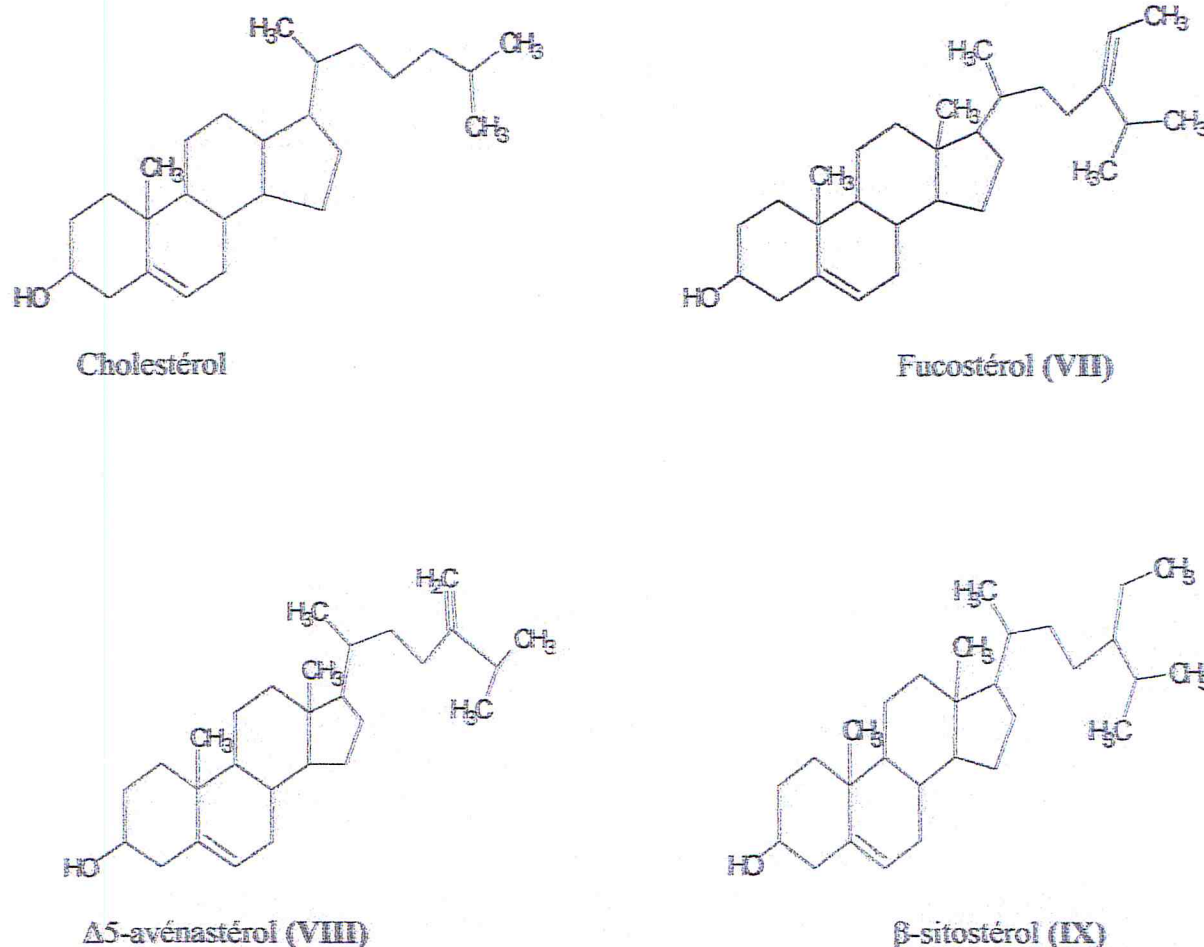


Figure I.2 : Les stérols majoritaires isolés d'algues brunes de la famille *Cystoseiracée*.

### I.2.3 Présentation du genre *Cystoseira*

Le genre *Cystoseira* est un taxon avec une distribution mondiale. Néanmoins, environ 80% des espèces sont présentes le long de la Méditerranée et les côtes adjacentes de l'Atlantique [12].

De nombreuses espèces de *Cystoseiras* (Tableau I.4) sont observées en Méditerranée occidentale [13,14].

Ce sont des algues brunes photophiles de grande taille, constituées d'un ou plusieurs troncs, portant de nombreuses ramifications, elle colonise les rochers éclairés et battus de l'étage infralittoral de la Méditerranée, ce sont des espèces très longévives (plusieurs dizaines d'années) [14]. Ce sont des algues brunes constituées par un axe principal qui est attaché au



rochers par un disque basal et duquel ils partent de nombreux rameaux primaires et secondaires [15].

Les plus grandes des *cystoseires* méditerranéennes peuvent dépasser les 1 m de hauteur [14]

Tableau I.4 : les *Cystoseires* de Méditerranée [15].

Espèces	Répartition géographique
<i>Cystoseira stricta</i>	Méditerranée occidentale
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	Atlantique nord-est (des îles britanniques à la Mauritanie) ;très localisée en Méditerranée(mer d'Alboran,Espagne,Afrique du Nord,Sicile).
<i>Cystoseira barbata</i>	Atlantique nord-est(Cadix),Méditerranée,mer Noire.
<i>Cystoseira caespitosa</i> <i>Cystoseira crinita</i>	Méditerranée occidentale Atlantique nord-est(Canaries),Méditerranée.
<i>Cystoseira compressa</i>	Atlantique nord-est,Méditerranée,mer noire.
<i>Cystoseira ercegovicii</i>	Atlantique nord-est ;Méditerranée.
<i>Cystoseira sauvageauiana</i>	Méditerranée occidentale
<i>Cystoseira zosteroides</i>	Méditerranée.
<i>Cystoseira mediterranea</i>	Méditerranée occidentale
<i>Cystoseira balearica</i>	Méditerranée .

Les espèces de ce genre sont buissonnantes, arborescentes, très ramifiées, très touffues, souvent de grande taille (30cm à 1m ou 2m) d'un aspect particulier et facilement reconnaissable, mais l'attribution de l'espèce est particulièrement difficile [8].

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

- Un disque basale : peut donner naissance soit à une seule tige lisse soit à plusieurs (plante cespitose). Il est fixé sur les fonds stables généralement rocheux [8].
- Une tige : partie de thalle comprise entre le disque basal et les rameaux primaires, généralement elle est cylindrique , la tige persiste durant toute la vie des *Cystoseira* , elle est dite pérennante [8].
- Des rameaux primaires : Ils croisent au sommet de la tige et se présentent comme de petites prolifération sur le bord ou un peu en dessus du sommet de la tige [8].

L'analyse des variations qualitatives et quantitatives, saisonnières et géographiques de la composition chimique des extraits de nombreuses espèces de *Cystoseiracées* a permis d'identifier des marqueurs chimiques qui peuvent être utilisés en chimiotaxonomie.

Le genre *Cystoseira* est caractérisé par des diterpènes et méroditerpènes particuliers.

L'ensemble des molécules méroditerpéniques extraites du genre *Cystoseira* peut être représenté par quatre squelettes type pour lesquels nous proposons la filiation suivante : le composé linéaire de base peut se cycliser en 7-11 pour donner les méroditerpènes monocyclisés, les monocycliques peuvent subir une cyclisation soit en 5-13, soit en 6-12-et enfin ces méroditerpènes bicycliques peuvent subir un réarrangement dans la chaîne latérale [16].

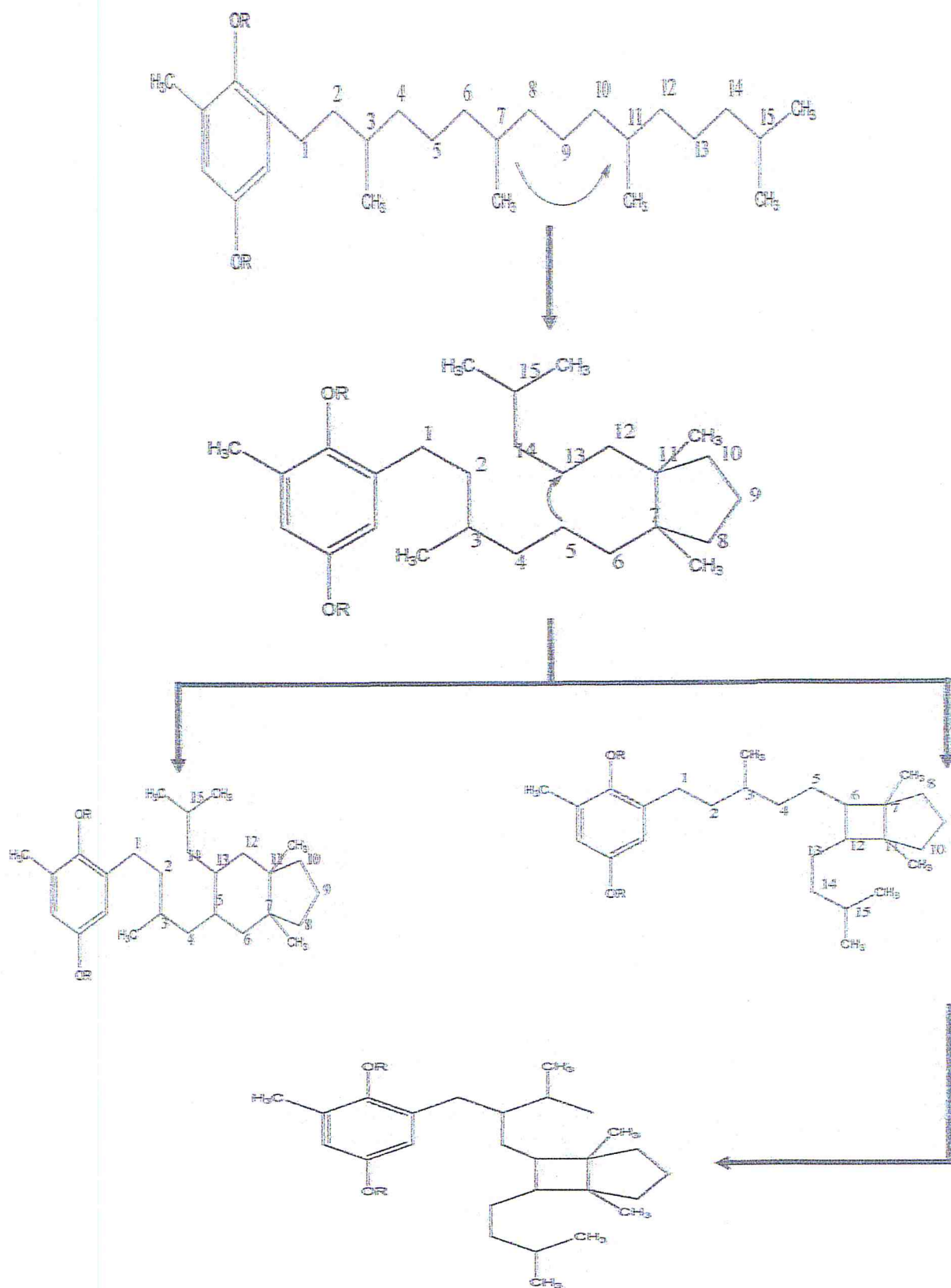


Figure I.3 : différentes classes des méroditerpènes.



### 1- Méroditerpènes linéaires

Les méroditerpènes linéaires pour lesquels la chaîne latérale diterpénique est, comme leur nom l'indique, linéaire (plus de 30 molécules ont été identifiées) [16].

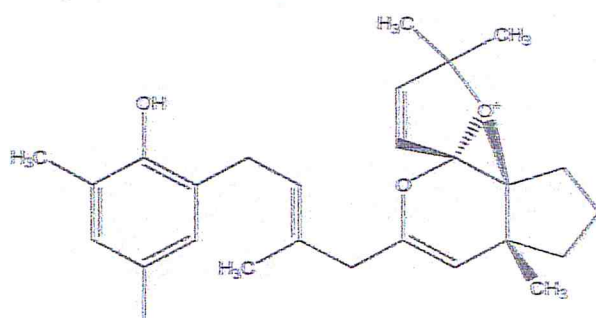
Comme par exemple on peut prendre; molécule qui a été isolé à partir de *C.tamariscifolia*.

[Voire structure (I)]

### 2- Méroditerpènes monocyclisés

Les méroditerpènes monocyclisés avec une chaîne latérale qui contient un seul cycle carboné (plus de 10 molécules ont été identifiées) [16].

Comme exemple on peut prendre Cystokétale qu'a été isolé à partir de *C.stricta* ;et Bifurcarénone (R=H) qu'a été isolé à partir de *C.tamariscifolia*. [voire structure (II)]

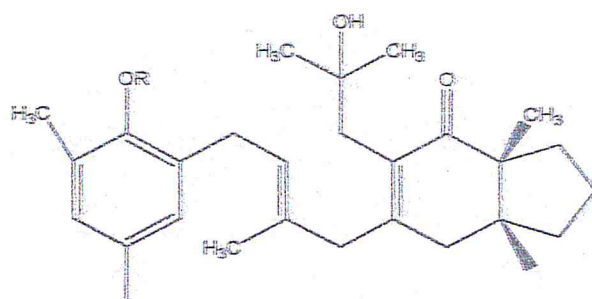


Cystokétale (X)

### 3- Méroditerpènes bicyclisés

Les méroditerpènes bicyclisés avec deux cycles carbonés dans la chaîne latérale ; on remarque la multitude de molécule communes à *C.amentacea* var. *stricta*, *C.mediterranea* et *C.tamariscifolia* (plus de 10 molécules ont été identifiées) [16].

Comme exemple on peut prendre Cystalgérone (R=CH<sub>3</sub>) qui est isolé à partir de *C. algeriensis* ; Balearone qui est isolé à partir de *C. stricta*. [Voire structure (III)]



cystalgérone



#### 4- Méroditerpènes réarrangés

Dans une quatrième catégorie, les méroditerpènes réarrangés [16].

Comme par exemple : la structures (V) de *C. stricta* et *C. tamariscifolia*, et la structure (VI) de *Cystoseira mediterranea*.

#### I.2.4 Généralités sur l'espèce *cystoseira tamariscifolia*

##### I.2.4.1 Description de l'espèce

C'est une algue brune solitaire, de longueur atteint à un mètre, iridescente verdâtre ou bleuâtre dans l'eau, attaché par un disque conique avec un axe cylindrique ramifié porte de nombreuse rameaux secondaires, divisé de petit ramules épineux (appelée: feuilles). Elle a d'autre appellation comme : *Fucus selaginoides*, *Fucus tamariscifolius*, *F.ericoides*, *Ericaria tamarisca*, *E.selago*, *Halerica ericoides*, *Cystoseira ericoides*, *Phryganella ericoides*, *C.selaginoides* [17].



Figure I.4 : *Cystoseira tamariscifolia*.

##### I.2.3.2 Position systématique de *Cystoseira tamariscifolia* [18]

**Phylum :** *Chromophyta*

**Embranchement :** *Pheophycophyta*

**Classe :** *Phaeophyceae*

**Sous classes :** *Fucophycidae*

**Ordres :** *Fucales*

**Familles :** *Cystoseiraceae*

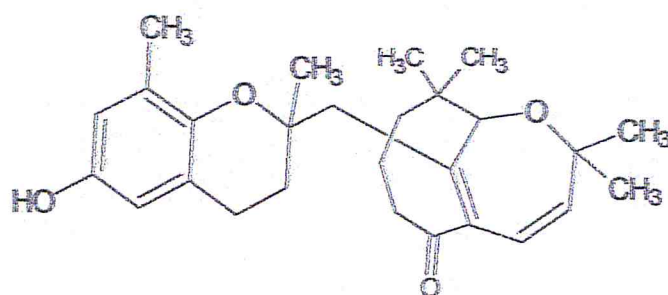
**Genres :** *Cystoseira*

**Espèce :** *C.tamariscifolia*

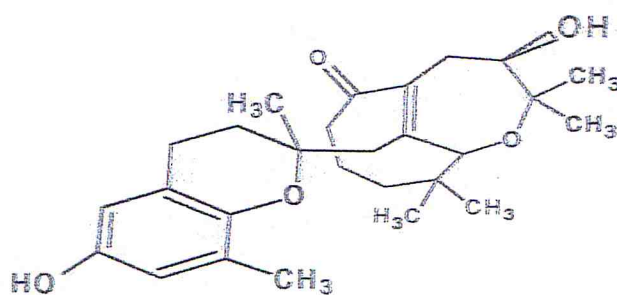
### I.2.4.3 Etude antérieure sur la composition chimique de *C.tamariscifolia*

Les études chimiques antérieures sur *Cystoseira tamariscifolia* ont montré la présence de molécules majoritaires mérodipteréniques. Pendant les années quatre-vingt plusieurs molécules communes entre *Cystoseira tamariscifolia* et d'autres espèces de *Cystoseira*, certaines présentent un intérêt biologique, on cite :

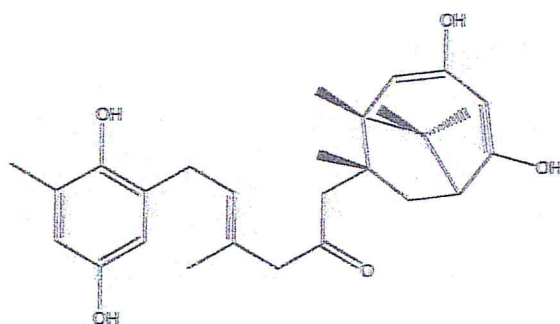
Le bifurcarénone [structure (II)], les cystoseirols A et C, méditerranéole A [18]



Cystoseriol A



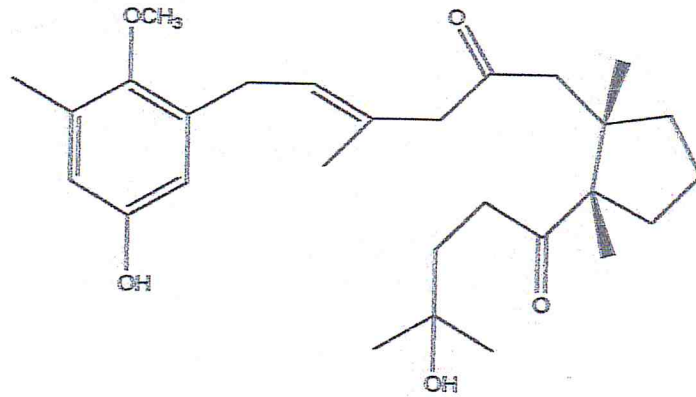
Cystoseriol C



Méditerranéole A

En 1993 R. Valls a découvert d'autres méroditerpènes, parmi ces molécules on trouve: le strictakétal, la baléarone, la néobaléarone [18]. [Les structures (IV), (III) et (V)]

Ensuite, en 1999, un autre méroditerpène a été isolé, le méthoxybifurcarenone qui présente des activités antifongiques et antibactériennes intéressantes [18].



Méthoxybifurcarenone

### L2.5 Généralités sur l'espèce *Cystoseira stricta*

*C. stricta*, *Cystoseira amentacea* var *stricta*, *Cystoseira sauvageau* var. *stricta* [17].

#### L2.5.1 Description de l'espèce

C'est une algue pérennante qui se localise en ceinture sur les cotes rocheuses et exposées de l'étage infralittoral supérieur [19]. Les plantes de cet espèce sont ramifiées, les rameaux cylindriques contiennent des ramifications secondaires, elles ont des axes de longueur allant jusqu'à 15cm avec des apex épineux, les rameaux primaires sont longues et couverts de ramules courtes de 20 à 40cm [17].



FigureL5 :*Cystoseira stricta*.



**L2.5.2 Position systématique de *Cystoseira stricta* [17]**

**Phylum :** *Chromophyta*

**Embranchement :** *Pheophycophyta*

**Classe :** *Phaeophyceae*

**Sous classes :** *Fucophycidae*

**Ordres :** *Fucales*

**Familles :** *Cystoseiraceae*

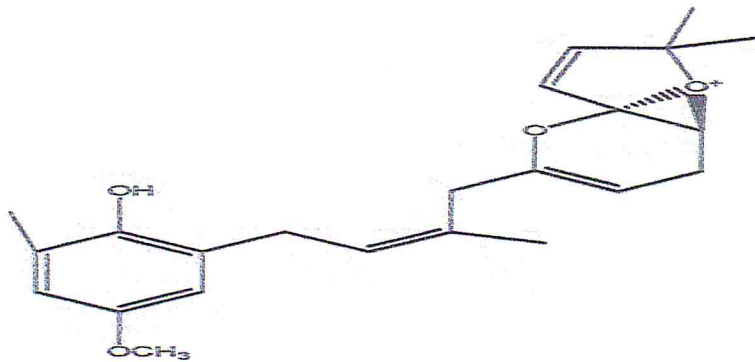
**Genres :** *Cystoseira*

**Espèce :** *C.stricta*

**L2.5.3 Etude antérieure sur la composition chimique de *C.stricta***

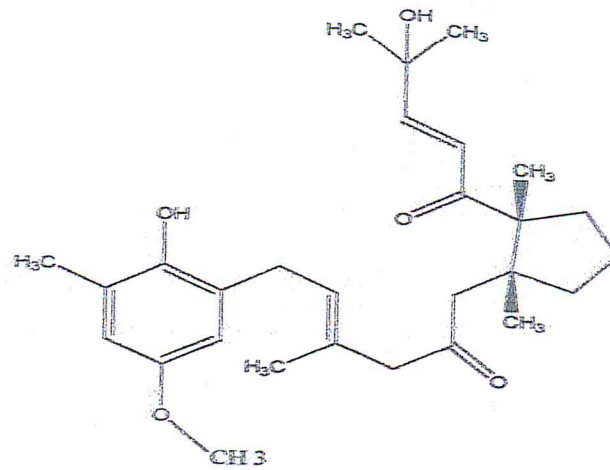
D'autres études antérieures ont pu isoler et identifier dans l'espèce *C.stricta* de nouveaux métabolites appartenant à la classe des Méthyltoluquinols (isocystoketal) et de méroditerpènes : 4'-méthoxy-(2E)-bifurcarenone et de stérols à savoir le fucostérol (93.1%),  $\Delta^5$ -avénastérol (1.0%), le  $\beta$ -sitostérol (0.6%) [Structures (VII) (VIII) (IX)], le desmostérol (0.1%).

A propos de l'activité biologique, cette espèce possède un bon pouvoir antioxydant et cela est dû aux deux molécules tétraprényltoluquinols (Cystoketal et Strictaketal) [20].

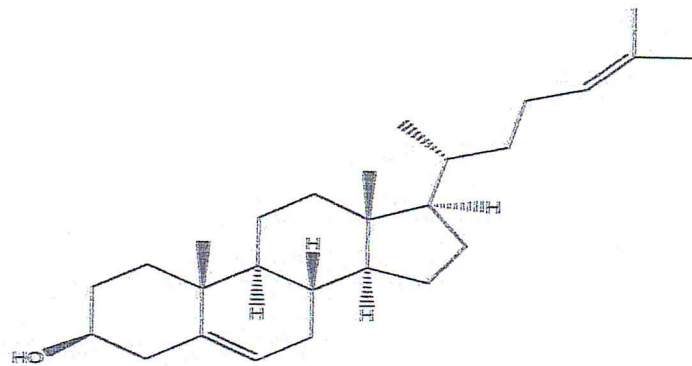


Isocystoketal





4-Methoxy-(2E)-bifurcarenone



Desmostérol

### I.3 L'algue brune du genre *Dictyota*

#### I.3.1 Présentation de la famille des *Dictyotaceae*

Les *Dictyotaceae* sont des algues brunes généralement répandues dans les eaux tropicales et subtropicales principalement dans les océans Atlantique, Pacifique et Indien, dans les mers des Caraïbes et de la Méditerranée et dans la mer du Japon.

Les espèces issues de cette famille sont caractérisées par la production des métabolites secondaires majoritairement des sesquiterpènes et des diterpènes de biosynthèse normale ou mixte. Ces derniers sont des produits naturels qui ont des activités antibactériennes, antivirales, cytotoxiques, algicide, antifouling, anti appétit [6].

### I.3.2 Présentation de l'espèce *Dilophus spiralis*

Les plantes de cette espèce d'algue brune rentrent dans la famille des *Dictyotacées*, ont une couleur marron-jaunâtre, avec un thalle ramifié de 15 cm d'hauteur [6].



Figure I.6 : *Dilophus spiralis*.

#### ➤ Taxonomie

Classe : *Phéophycées*.

Ordre : *Dictyotales*.

Famille : *Dictyotaceae*.

Genre : *Dilophus*.

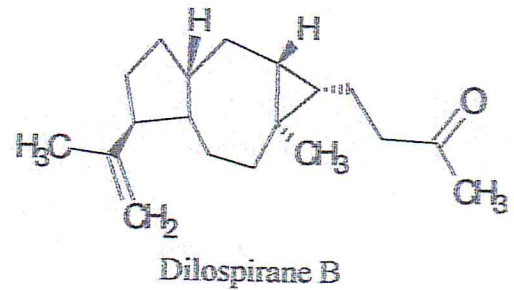
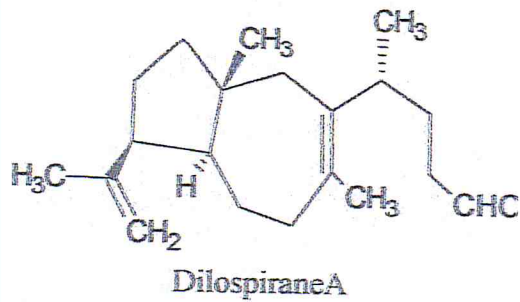
Espèce : *Dilophus spiralis*.

Les algues brunes de la famille de *Dictyotaceae* en particulier les espèces appartenant au genre *Dictyota* et *Dilophus* sont connus comme un producteur principale de métabolites secondaires biologiquement actifs [21].

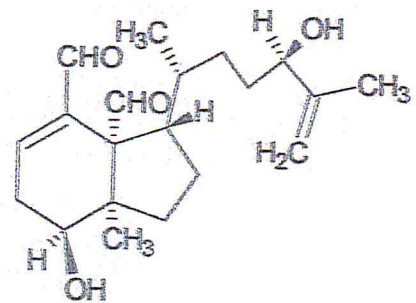
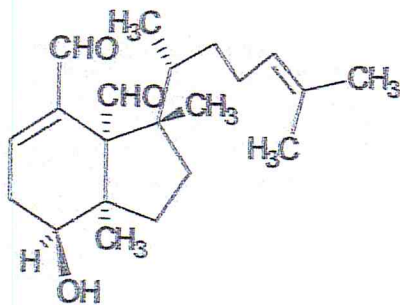
L'extrait brut de *D. spiralis* a été examiné, il a montré l'activité antimicrobienne cela a conduit à l'identification des diterpénoides bioactifs [21].

#### ➤ Les principales métabolites secondaires :

Les dilospiranes A et B : ce sont des diterpènes présentant des carbocycles, ont été isolés à partir de l'extrait organique de l'algue brune *Dilophus spiralis* [22].



Les cyclo xénicane : des nouveaux diterpenes ont été isolés à partir des extraits organiques de l'algue brune *Dilophus spiralis* [23].



Les cyclo xénicane

#### I.4 Généralité sur les bactéries

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires, qui survivent depuis des milliards d'années et continueront à survivre jusqu'à l'extinction du système solaire, elles ont une grande variété de formes, il y a des bactéries sphériques, allongées, bâtonnets ou spiralées. Elles rentrent dans la classe des procaryotes (microorganismes sans noyau). Il existe environ quatre à six quintillions ( $4 \cdot 10^{30}$  à  $6 \cdot 10^{30}$ ) de bactéries sur la terre, certaines sont bénéfique et d'autre peut provoquent des maladies [24].

##### I.4.1 Le rôle des bactéries

Les bactéries sont des habitants les plus éminents de notre planète, elles représentent une multiplicité de rôle dans différents domaines :

- Elles réalisent la dégradation des hydrocarbures et des substances insoluble d'origine végétale (cellulose, le lignite), oxydent le soufre, produisent des nitrates.....
- Elles assurent la respiration de la planète (production d'oxygène, fixation de l'azote de l'atmosphère).



- Les bactéries sont utilisées par l'homme pour traiter les eaux usées, la fabrication des produits laitiers, du pain, des boissons alcoolisées.
- Elles sont aussi utilisées pour produire l'insuline, l'hormone de croissance, le vaccin et les antibiotiques [24].

### I.4.2 Les principaux agents antimicrobiens

#### I.4.2.1 Les antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : antibiotiques.

Ces derniers sont des substances chimiques, élaborées par des micro-organismes ou par synthèse chimique, capables d'inhiber la multiplication (bactériostatique) ou de détruire (bactéricide) des bactéries [25].

##### a. Modes d'action des antibiotiques

Les 4 principaux modes d'actions des antibiotiques sont [25]:

- Inhiber la synthèse de la paroi bactérienne (peptidoglycane).
- Inhiber la synthèse de la membrane cytoplasmique.
- Inhiber la synthèse de l'ADN bactérien.
- Inhiber la synthèse de protéines bactériennes.

##### b. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques ont été regroupés en familles dont la distinction repose sur la structure chimique, le mode d'action, et le spectre d'activité.

Les principales familles chimiques des antibiotiques sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau I.5 : les principales familles des antibiotiques [26].**

Familles	Antibiotiques
Beta-Lactamines	Ampicilline
Aminosides	Kanamycine
Tétracyclines	Oxytétracycline-Chlortétracycline
Macrolides	Erythromycine

Parmi les organismes marins, les algues sont sources riches en composés bioactifs récemment. Les chercheurs ont indiqué que les composés extraits d'algues marines montrent diverses activités biologiques à savoir, des activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires.

### I.4.2.2 Les extraits végétaux

L'activité biologique d'un extrait végétale est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leur effets synergiques [27].

#### ❖ Mode d'action contre les bactéries

Les extraits possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches bactériennes, ils sont efficace contre un large spectre de microorganisme pathogène et non pathogène, mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phase [27] :

- Attaque de la paroi bactérienne, provoquant ainsi une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification cellulaire interne, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

### I.4.3 Les bactéries :

#### I.4.3.1 *Escherichia Coli*

C'est une espèce bactérienne aérobie à gram négatif de la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est un bacille commensal la plus fréquente du microbiome digestif mais elle est responsable de certaine maladie comme les infections urinaires, diarrhées, bactériémies, méningites néonatales [28].

#### I.4.3.2 *Pseudomonas aeruginosa*

*Ps aeruginosa* est une bactérie à gram négatif qu'on peut la trouver dans (eaux, sols, végétaux....), mais elle peut coloniser le corps humain surtout : la peau, le nez, la gorge de l'homme. C'est un bacille responsable d' infections nosocomiales souvent graves [29].

#### I.4.3.3 *Bacillus subtilis* :

C'est une espèce aérobie du genre *Bacillus* , c'est un bacille de gram positif [30], elle peut provoquer une certaine pathologie allergique comme les pneumopathies d'hypersensibilité (PHS) [31], elle est de la famille des *Bacillaceae* [32].

#### I.4.3.4 *Listeria monocytogenes*

C'est une espèce à gram positive du genre *Listeria* [33], elle existe dans l'intestin humain, le sol, l'eau, et aussi dans les légumes frais. C'est une bactérie pathogène pour l'homme puisqu'elle peut provoquer des maladies et des infections alimentaires : diarrhée, listériose, salmonellose [34].



#### I.4.4 Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits des plantes

L'activité antimicrobienne des extraits lipidiques a été démontrée par de nombreuses méthodes, qui peuvent être classés dans des méthodes de dilution qui génèrent des résultats de concentration minimale inhibitrice CMI et des méthodes de diffusion qui génèrent un résultat de diamètre de zone [35].

Les principales méthodes sont :

- Méthode de diffusion sur disque.
- Méthode de diffusion en puits.
- La dilution en bouillon.
- La dilution en gélose.

##### 1- La méthode de diffusion sur disque :

Cette méthode a été développée en 1940, elle est utilisée dans de nombreux laboratoires de microbiologie clinique pour les tests de susceptibilité aux antimicrobiens. Dans cette méthode, le milieu d'agar approprié est coulé dans des boîtes de pétri, puis il est ensemencé avec une suspension de la bactérie à étudier. Les disques de papier filtre stérilisés de 6 mm sont saturés avec un extrait de plante de la concentration souhaitée. Ils sont ensuite placés sur la surface d'un milieu d'agar solide comme Mueller Hinton. Les boîtes de Pétri sont incubées dans des conditions appropriées (24 h à 37°C pour les bactéries et 48 h pour les levures). Généralement, l'agent antimicrobien diffuse dans la gélose et inhibe la germination et la croissance du microorganisme d'essai, après l'incubation les diamètres d'inhibition des zones de croissance sont mesurés [36].

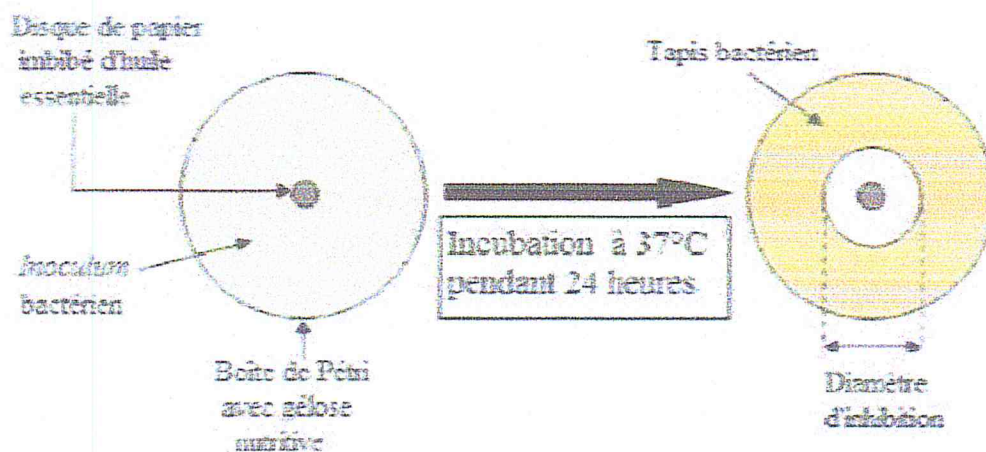


Figure I.7: Le principe de la méthode de diffusion sur disque.



2- La méthode de diffusion en puits :

Elle est largement utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne de plantes ou d'extraits. Le principe de cette méthode est similaire à celui de la diffusion sur disque. Le milieu d'agar approprié est coulé dans des boîtes de pétrie, il estensemencé avec une suspension de la bactérie à étudier. Ensuite, un trou avec un diamètre de 6 à 8 mm est perforé de manière aseptique avec un tir-bouchon stérile. Un volume (20 - 100 µl) de l'agent antimicrobien ou de l'extrait est introduit dans le puit d'agar perforé. Les boîtes pétries sont incubées à une température et une durée optimales en fonction du microorganisme testé. L'agent antimicrobien diffuse dans le milieu gélosé et inhibe la croissance de la souche microbienne [36].

❖ La concentration minimale inhibitrice CMI :

La CMI est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 heures [37].

C'est méthodes de dilution la plus appropriée pour la détermination des valeurs de la CMI, car elle offre la possibilité d'estimer la concentration de l'agent antimicrobien testé dans l'agar (dilution en gélose) ou milieu de bouillon (macrodilution ou microdilution). D'où l'activité antimicrobienne in vitro contre les bactéries et champignons peut être mesuré quantitativement [36].

3- La dilution en bouillon :

Elle peut être effectuée dans des tubes à essais contenant un volume supérieur à 1,0 ml (habituellement 2 ml) (macrodilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration de 96 puits (microdilution) [35].

Un milieu de culture liquide est versé dans des tubes à essais de 2 ml (macrodilution) ou dans une plaque de microtitration à 96 puits (microdilution). Ensuite, chaque tube ou puits est inoculé avec des microorganismes d'essai à des concentrations standard.

Après le mélange, les tubes inoculés ou les 96 puits de la plaque de microtitration sont incubées sous des conditions appropriées en fonction du micro-organisme d'essai.

Après l'incubation, les tubes sont examinés pour détecter les changements de turbidité comme indicateur de croissance [36].

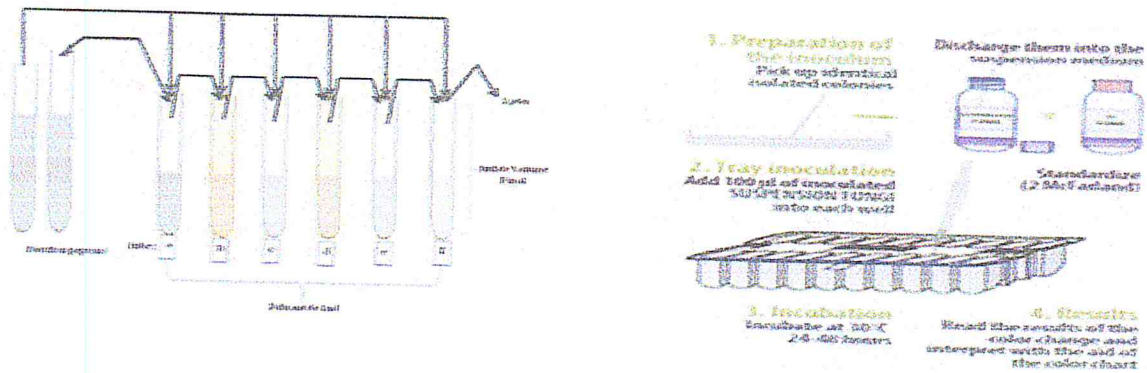


Figure L8 : Principe de dilution en bouillon (macro et microdilution)

4- La dilution en gélose :

La méthode de dilution en gélose est basée sur l'incorporation de différentes concentration de l'agent antimicrobien dans la gélose (milieu agar fondu), suivie de l'inoculation des bactéries sur la surface. Les boîtes sont incubés pendant 24 h ou plus et la croissance des bactéries sur le mélange extrait / agar est marquée soit présente ou absente. Les points finaux des CMI sont enregistrées comme la plus faible concentration d'agent antimicrobien qui inhibe complètement la croissance dans des conditions d'incubation appropriées [36].

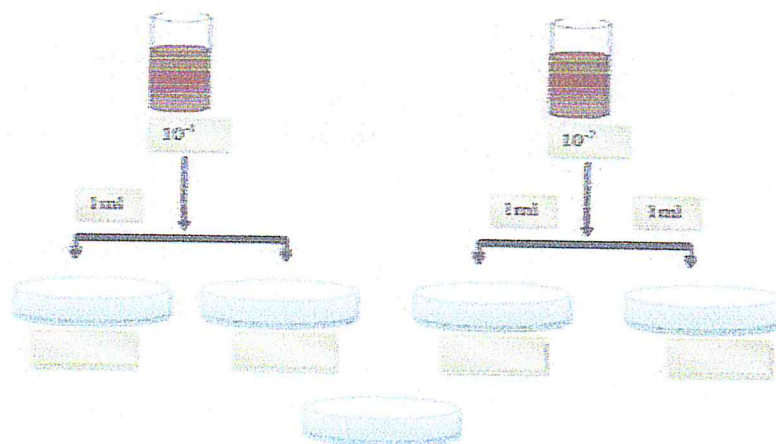


Figure L9 : principe de la dilution en gélose



### I.5 Définition de l'effet de synergisme

La synergie résulte d'une interaction positive entre deux antibiotiques dont l'action antibactérienne conjointe est supérieure à la somme des actions de chacun des deux .

La notion de synergie, elle a défini en terme de concentration minimale inhibitrice (CMI) ou bactéricide (CMB) selon un regard du microbiologiste ou du clinicien. C'est l'une des quatre types d'interaction entre deux antibiotiques ou deux matières biologiquement actives :

- Synergie : l'effet de la combinaison est significativement supérieur à la somme des activités de chaque matière étudiée séparément à la même concentration avec  $FICI < 0.5$ .
- Addition : l'effet de la combinaison est égal à la somme des effets de chaque matière étudiée séparément à la même concentration que dans la combinaison avec  $0.5 \leq FICI \leq 1$ .
- Indifférence : c'est-à-dire l'activité de l'un des deux matières n'est pas affectée par la présence de l'autre avec  $1 \leq FICI \leq 4$ .
- Antagonisme : la combinaison diminue l'effet de l'un ou l'autre des matières actives. L'activité de cette combinaison est inférieure à la somme des effets de chacun étudié seul à la même concentration avec  $FICI > 4$  [38].

$$FICI = FIC(1) + FIC(2)$$

$$FIC(1) = \frac{CMI(1)_{combinaison}}{CMI(1)_{seul}}$$

$$FIC(2) = \frac{CMI(2)_{combinaison}}{CMI(2)_{seul}}$$



# **PARTIE EXPÉRIMENTALE**

L'objectif de cette partie consiste à étudier l'activité antibactérienne des extraits de *Cystoseira stricta*, *Cystoseira tamariscifolia* et *Dilophus spiralis*, et la détermination de l'effet de synergisme entre ces extraits. Pour atteindre notre objectif, nous avons divisées notre travail en deux étapes :

- La macération des algues brunes pour obtenir l'extrait brute.
- Détermination de l'activité antibactérienne des extraits et l'étude de l'effet de synergisme.

### II.1 Matériels

#### II.1.1 Matériel végétale

##### ❖ Lieu et date de récolte des espèces étudiées

Les algues *C.stricta*, *C.tamariscifolia* et *D.spiralis* sont des algues brunes, elles ont été récoltées au niveau du complexe de rocher blanc dans la wilaya de Tipaza, durant les mois de juin 2011 et juin 2012.

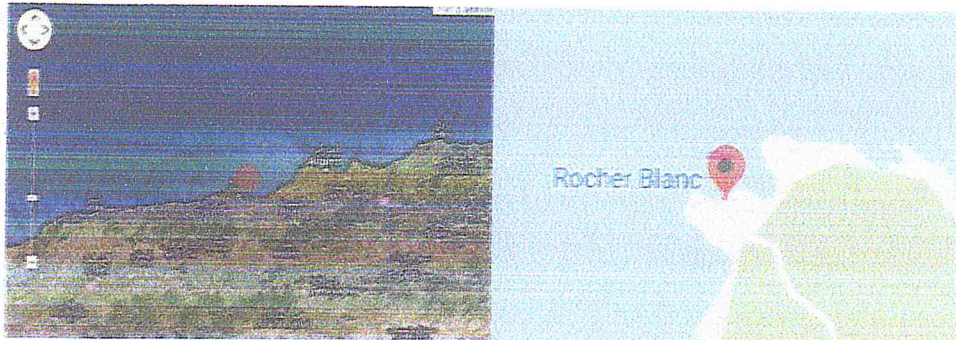


Figure II.1: localisation géographique du site de récolte.

Après la récolte, les algues ont subi nettoyage et élimination de tous les organismes indésirables (autres plantes, petites animaux, les déchets.....), qui peuvent provoquer des effets sur l'extrait.

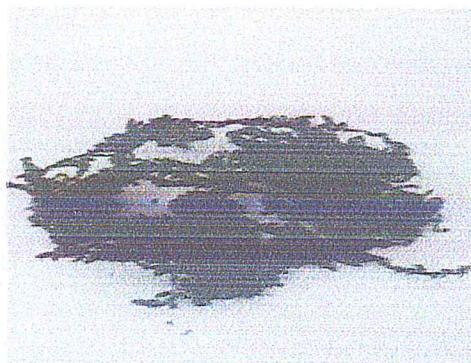


Figure II.2 : *C. tamariscifolia*



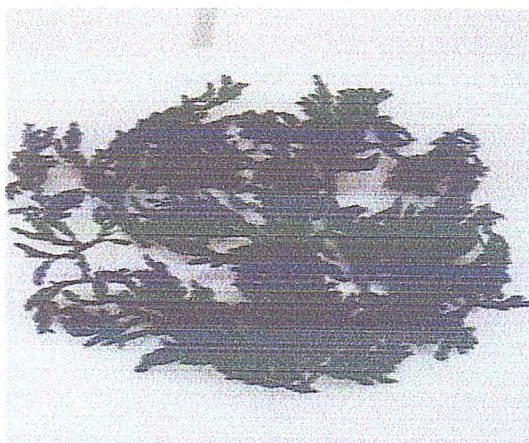


Figure II.3 : *C.stricta*



Figure II.4 : *D.spiralis*

L'ensemble de ce travail a été effectué au laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Biomolécules «LCSN-BioM » de L'Université de Blida1.

### II.1.2 Produits chimiques

- Méthanol
- Chloroforme
- Ether de pétrole
- Sulfate de Magnésium(MgSO<sub>4</sub>)
- DMSO : Dimethyl Sulfoxyde.
- Solution NaOH 1M.
- Na Cl : Chlorure de sodium.

### II.1.3 Appareillage

- Rota vapeur
- Autoclave
- Etuve
- Incubateur rotatif
- Micropipette
- Balance de précision
- Agitateur magnétique

### II.1.4 Milieu de culture

- Milieu nutritif (milieu de pré-culture).
- Gélose Muller Hinton (milieu de l'activité antibactérienne).



### II.2 Méthodes

#### II.2.1 Préparation d'extrait de *Cystoseira Stricta* et *C.tamariscifolia* et *Dilophus spiralis* par macération

##### ➤ Préparation des extraits

L'extrait a été préparé par macération à froid dans un mélange de solvant (Chloroforme avec le méthanol (50/50)) à une température ambiante pendant deux semaines. L'algue a été extraite deux fois afin de l'épuiser au maximum,

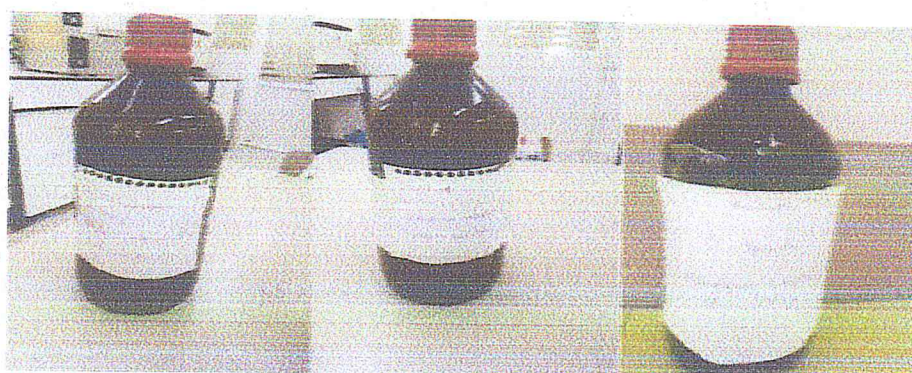
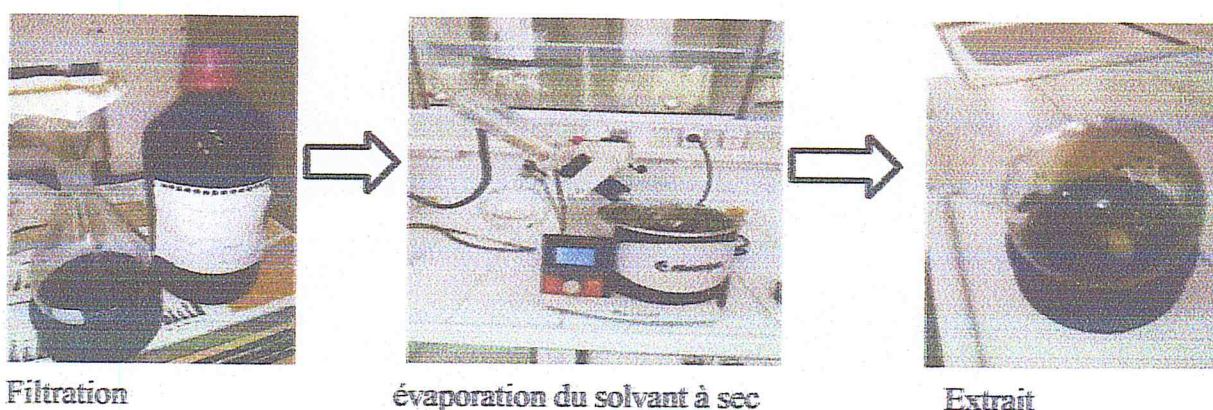


Figure II.5 : la macération des algues.

Les miscellas (solvant + extrait) ont été regroupés. L'extraction a été suivie d'une filtration et évaporation du solvant (à sec) à une température de 40°C.



L'extrait obtenu a été solubilisé dans l'éther de pétrole, et puis le transmettre sur le déséchant ( $MgSO_4$ ) pour éliminer toute trace d'eau.

L'extrait obtenu été pesé, afin de calculer le rendement, ensuite stocké à 4°C.





Figure II.6 : Flacon d'extrait brute *C.stricta*.



Figure II.7 : Flacon d'extrait brute *C.tamariscifolia*

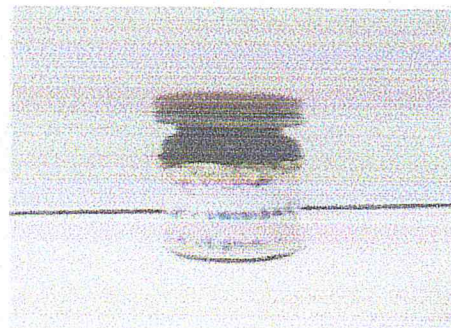


Figure II.8 : Flacon d'extrait brut *D.spiralis*

Les principales étapes de la préparation des extraits sont résumées dans l'organigramme suivant :

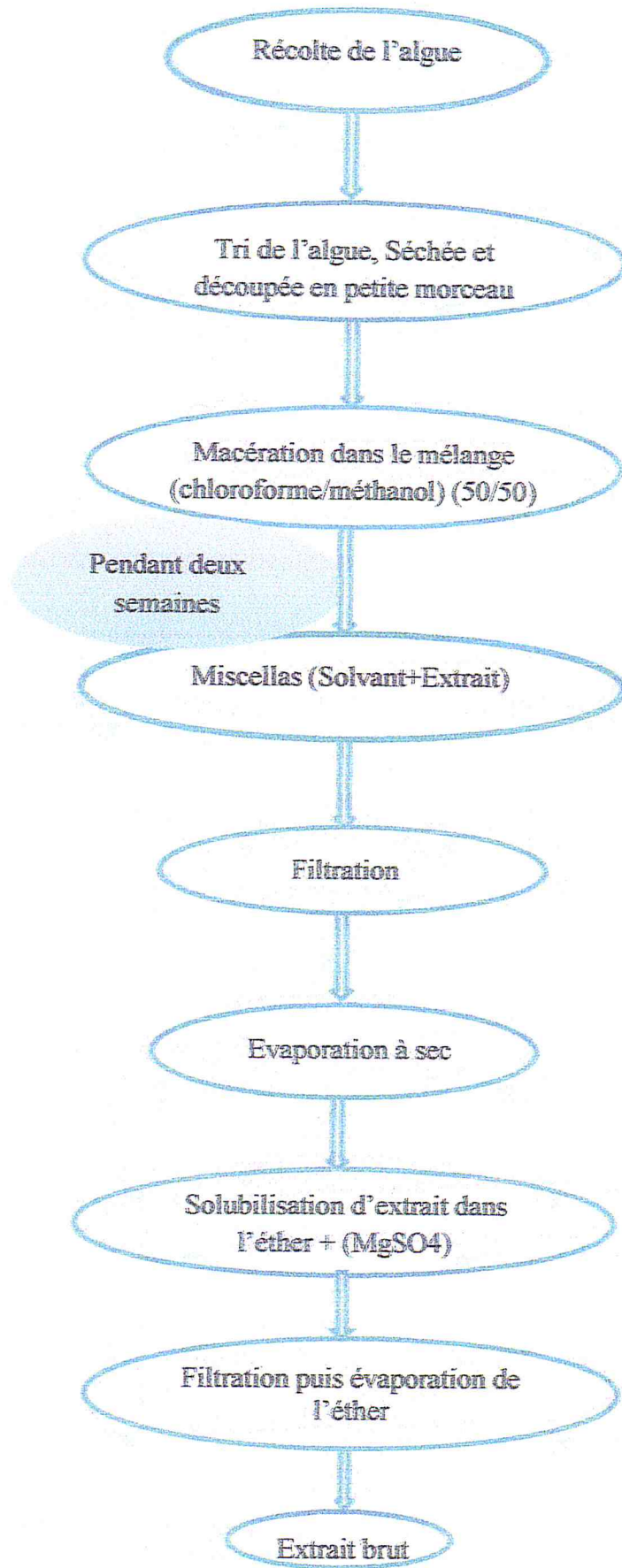


Figure II.9: Méthodologie expérimentale de l'extraction.

## II.2.2 Etude de l'activité antibactérienne

### II.2.2.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La CMI est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber la croissance des bactéries.

C'est une valeur qu'on peut déterminer par plusieurs méthodes, parmi ces méthodes on note la dilution en bouillon et dilution en gélose. Ces méthodes consistent d'effectuer des dilutions d'extrait dans le milieu gélosé solide MH, puis inoculer ce milieu avec les souches testées ; grâce à ces dilutions on pourra définir la plus faible concentration qui inhibera la croissance des microorganismes testés.

#### a- Souches microbiennes choisies

Les souches de références utilisées pour les tests bactériens sont :

- ❖ Bactéries à Gram (+) : *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*.
- ❖ Bactéries à Gram (-) : *Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau II.1 : Souches utilisées dans le test antibactérien

Souches	Gram	Références (ATCC)
<i>Bacillus subtilis</i>	+	ATCC 6633
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	ATCC 49594
<i>Escherichia Coli</i>	-	ATCC 43300
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC25843

#### b- Repiquage des souches

Les souches bactériennes utilisées ont été ensemencés à l'aide d'une pipette pasteur sur des boîtes de Pétri de 90 mm contenant respectivement le milieu Mueller-Hinton solide.

Ces boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h.

#### c- Préparation et composition des milieux de culture

Le milieu de culture utilisé pour préparer l'inoculum est le milieu nutritif liquide, sa composition chimique est constituée de 0.6g d'extrait de bœuf, 2g de peptone ,1g de NaCl. Le tout est solubilisé dans 200 ml d'eau distillée, est soumis à une agitation.

Le pH du milieu est ajusté avant la stérilisation à 7 par la solution de NaOH 1M. La stérilisation du milieu est réalisée à l'autoclave pendant 20 min à 120 °C.





Figure II.10 : milieu nutritif liquide

Le milieu de culture utilisé pour l'activité antibactérienne est : Gélose Mueller Hinton. Dans un erlenmeyer, on verse une quantité (15,2g) de milieu gélosé en poudre (Muller- Hinton) puis on ajoute l'eau distillée (400ml) ; le tout est soumis à une agitation et un chauffage (FigII.13). La stérilisation du milieu est réalisée à l'autoclave pendant 20 min à 120 °C.

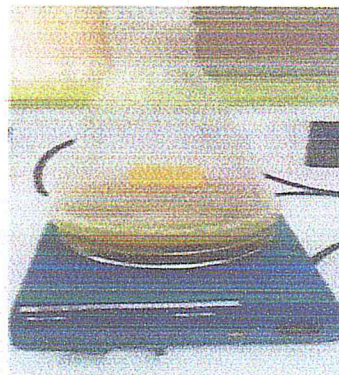


Figure II.11 : le milieu gélosé MH

### d- Préparation de l'inoculum (pré-culture)

A l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes sont raclées et déchargées dans 50 ml de milieu de culture stérile, puis agiter quelques minutes et incubé dans un incubateur rotatif pendant 24 h à 37 °C.



Figure II.12 : la pré-culture des 4 souches

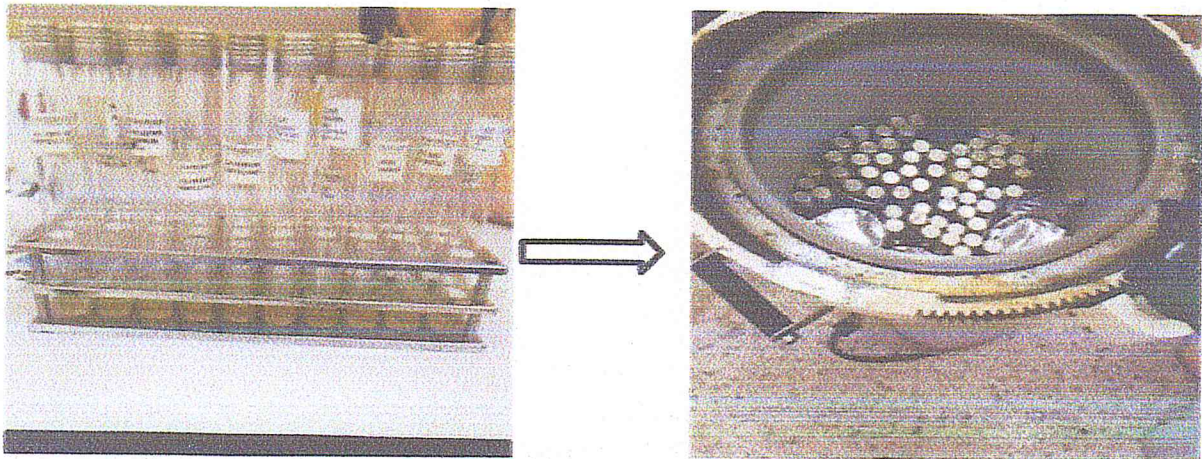
### A) La méthode de la dilution en bouillon

#### 1- Préparation du milieu

On a préparé le milieu nutritif (0.3g extrait de bœuf ,0.5g Na Cl ,1g peptone).

On a partagé le milieu de culture dans des tubes à essais dont le premier tube contenant 4 ml et les six autres 2 ml.

La stérilisation du milieu (les tubes remplis) est réalisée à l'autoclave sous pression de 2 bar pendant 20 min à 120 °C.



#### 2- Préparation des différentes concentrations des échantillons testées

Pour préparer la solution mère de concentration 40mg/ml ; on pèse 160mg d'extrait et on a ajouté 1 ml de DMSO pour solubiliser l'extrait, en suite on verse 3 ml de milieu. Puis on prépare les solutions filles (autres dilutions) on prend 2 ml de solution mère et on l'ajoute 2 ml de milieu nutritif, continuer ainsi jusqu'à ce qu'on obtient la 6<sup>ème</sup> dilution (1.25 mg/ml).

#### 3- Ensemencement des souches

A l'aide d'une micropipette on prend 100µl de l'inoculum, et on verse dans les tubes à essais, puis on agite bien le mélange.

#### 4- L'incubation

Les tubes à essais sont incubés dans un incubateur rotatif à 37°C pendant 24h.

❖ **Remarque :** On n'a pas obtenus des résultats favorables, c'est pour ça qu'on a utilisé la dilution en gélose.



### B) La dilution en gélose

On Pèse 400mg d'extrait et on ajoute 1ml de DMSO pour solubiliser l'extrait, puis On prépare une dilution de 8 mg/ml d'extrait à tester en diluant 400mg de notre extrait dans 50 ml du milieu, bien homogénéiser le flacon puis on verse 25 ml de son contenu dans une boîte pétri, après on ajoute 25 ml de milieu pour avoir la dilution ( $[c]=4\text{mg/ml}$ ), continuer ainsi jusqu'à ce qu'on obtient la dilution ( $C= 0.25 \text{ mg/ml}$ ) on la laisse solidifier, puis on Partage chaque boîte en deux parties : On dépose sur chaque partie une suspension microbienne à l'aide d'une micropipette ; et on étale la suspension avec un écouvillon, on laisse les boîtes sur les paillasse 30 minutes, ensuite on les incube à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 h.

- ❖ La croissance des bactéries sur le mélange (extrait /milieu) est marquée soit présente ou absente (Annexe I).



Figure II.13 : les dilutions d'un extrait avec le milieu MH dans l'étuve

#### II.2.2.2 Test de synergismes

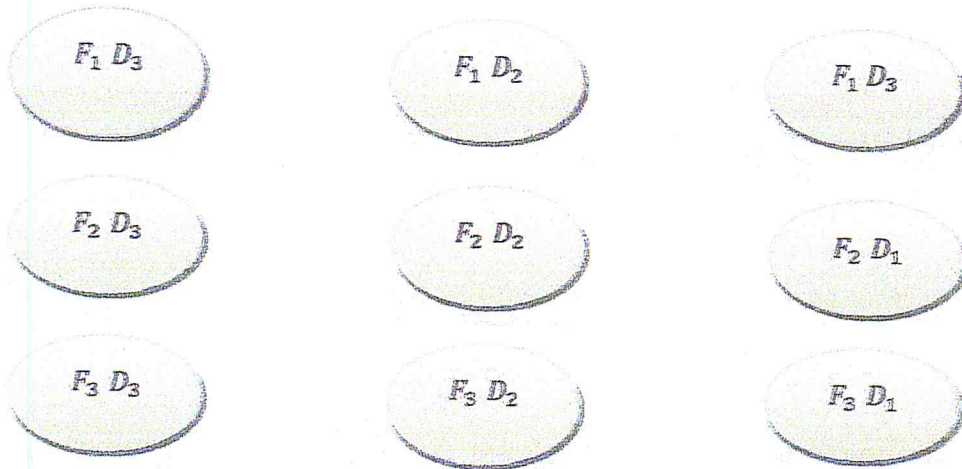
- Le protocole

Après la détermination des valeurs de CMI, on mélange les extraits deux par deux pour réaliser cette étude :

- ✦ 1<sup>er</sup> mélange *C.tamariscifolia* + *C.stricta* :
- Préparation des extraits :

On prépare le milieu MH de la même méthode qu'on a cité dans la partie précédente. D' autre part on met dans des tubes à essais les concentrations suivantes :





Avec :

F : extrait de *C.tamariscifolia*.

D : extrait de *C.stricta*.

1 : c'est 1/2 de la CMI.

2 : c'est 1/4 de la CMI.

3 : c'est 1/8 de la CMI.

Puis on ajoute 1ml DMSO dans chaque tube, et on mélange jusqu'à la solubilisation des extraits (Annexe 2).

Sur une paillasse bien stérile, on verse 9 ml de milieu MH avec le 1<sup>er</sup> tube on agite puis on le met dans la boîte de pétri, on continue de même manière avec les 9 tubes.

Laisser les boîtes diffusées après on étale la bactérie, et à la fin on incube à 37°C pendant 24h. (Toutes ces étapes pour une seule souche, donc on répète les mêmes étapes avec les autres souches).

### ○ Lecture :

Le test de synergisme nécessite la détermination de la nouvelle valeur de CMI pour le mélange, on compare la croissance des souches dans les boîtes de jus qu'à verticalement (Annexe 1).

### ✦ Le mélange (*C.tamariscifolia* + *D.spiralis*)

### ○ Préparation des extraits :

On prépare le milieu MH de la même méthode qu'on a cité dans la partie précédente.

D' autre part on met dans des tubes à essai les concentrations de la même manière qu'on a cité dans la partie précédente.

**II. 4 Résultats et discussion**

**II.4.1 Caractéristiques organoleptiques des extraits brute de *Cystoseira stricta* et**

***Cystoseira tamariscifolia***

Les propriétés organoleptiques constituent généralement une partie d'étude visant à analyser les facteurs qui affectent la qualité des extraits.

Les propriétés ont été effectuées en observant et en inhalant directement nos extraits. Dans cette étude, trois critères ont été considérés pour évaluer la qualité organoleptique :

- L'aspect.
- La couleur.
- L'odeur.

Les propriétés organoleptiques des extraits bruts sont regroupées dans le tableau suivant.

**Tableau II.2:** Propriétés organoleptiques des extraits bruts de *Cystoseira stricta*, *Cystoseira tamariscifolia* et *Dilophus spiralis*.

Extrait brute	Caractères organoleptiques		
	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Cystoseira stricta</i>	Pâteux	Verdâtre	Caractéristique
<i>Cystoseira Tamariscifolia</i>	Pâteux	Verdâtre	Caractéristique
<i>Dilophus spiralis</i>	Pâteux	Verdâtre	Caractéristique

❖ Rendement en extrait brut

Le rendement en extrait brut est estimé comme étant le rapport entre la masse de l'extrait brut et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R_{Ext} = \frac{m_{Ext}}{m_{MV}} * 100$$

$R_{Ext}$  : Rendement en extrait.

$m_{Ext}$  : Masse de l'extrait.

$m_{MV}$  : Masse de l'algue sèche.

Le rendement en extrait obtenu dans cette étude est mentionné dans le tableau.

Tableau II.3 : Le rendement des extraits.

Extrait brute	$m_{Ext}(g)$	$m_{MV}(g)$	Rendement %	$R_{moy}\%$
<i>Cystoseira stricta</i>	m1=1.35	m1=300	0.45	0.51
	m2=1.42	m2=300	0.47	
	m3=3.57	m3=581.2	0.61	
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	m1=4.81	m1=300	1.60	0.97
	m2=0.09	m2=300	0.03	
	m3=5.21	m3=409	1.27	
<i>Dilocus spiralis</i>	m=1.42	m=218	0.65	0.65

Ces valeurs représentent la moyenne de 3 macérations.

Le rendement en extrait de *Cystoseira stricta* pour le mélange du solvant (chloroforme/méthanol) est de 0,51 %.

Le rendement en extrait de *Cystoseira tamariscifolia* est de 0,97%, cette valeur est faible par rapport aux travaux fait par Ainane [8], ou il a obtenu 5,67% en extrait méthanolique.

, donc on conclut que le méthanol est un bon solvant pour donner un bon rendement.

La valeur du rendement d'extrait *Dilophus spiralis* est assez faible par rapport à d'autres algues brunes de la même famille.



### II. 4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice des échantillons testés

La valeur de la CMI correspond à la première concentration qui inhibe la croissance bactérienne. Le tableau suivant montre les résultats obtenus sur les boîtes de pétris de l'activité antibactérienne des échantillons testés sur les bactéries après 24 h d'incubation.

- Pour la dilution en bouillon on a les résultats suivants

La détermination de la CMI en utilisant cette méthode n'était pas possible, à cause du trouble qui a été observé dans tous les tubes. Le trouble est dû à la présence des pigments qui ont été extraits par le solvant d'extraction. Du coup la croissance des bactéries dans les tubes n'est pas visible. Cette méthode est plus utile dans le cas des huiles essentielles car elles sont transparentes et la croissance dans ce cas peut être déduite aisément. Pour palier à ce problème il fallait changer carrément la méthode d'évaluation de la CMI qui est la méthode de dilution en gélose.



Figure II.14 : Les tubes de dilution en bouillon.

- Dilution en gélose

Les résultats de cette activité antibactérienne sont élucidés dans le tableau suivant :

Tableau II.4: Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des échantillons testés.

Souches	Gram	CMI (mg/ml)		
		<i>C.stricta</i>	<i>C.tamariscifolia</i>	<i>D.spiralis</i>
<i>Escherichia coli</i>	-	12	8	/
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	-	0.25	2	/
<i>Bacillus subtilis</i>	+	/	8	8
<i>Lesteria Monocytogenes</i>	+	8	8	/

D'après le tableau ,on remarque que l'extrait *C.stricta* a une CMI de 12mg/ml contre *Escherichia coli*, et l'extrait *C.tamariscifolia* a une CMI de 8mg/ml contre la même souche ,et elle est résistante au *D.spiralis* donc pour cette bactérie on peut dire que l'extrait de *C.tamariscifolia* est plus actif que l'extrait de *C.stricta*.

L'extrait *C.stricta* à une CMI de 0,25mg/ml contre *Pseudomonas aeruginosa*, et l'extrait de *C.tamariscifolia* à une CMI de 2mg/ml contre la même souche, *Pseudomonas aeruginosa* est résistante à l'extrait *D.spiralis*, on conclue que l'extrait de *C.stricta* est plus actif que celui de *C.tamariscifolia*. La bactérie *Bacillus subtilis* est résistante au *C.stricta*. Les extraits *C.tamariscifolia* et *D.spiralis* ont une CMI de 8mg/ml contre cette souche, donc les deux extraits ont une activité similaire contre cette bactérie, *C.stricta* n'a pas un effet inhibiteur sur *Bacillus subtilis* ce qui est peut-être à cause de la gamme de concentration utilisées qui pourrait être loin de la CMI de l'extrait *C.stricta*.

Les deux extraits *C.tamariscifolia* et *C.stricta* ont une CMI de 8mg/ml contre *Lesteria monocytogenes*.

Dans notre cas, on remarque que toutes les souches testées étaient résistantes au *D.spiralis* dans la gamme de concentration utilisée sauf *Bacillus subtilis* qu'a été inhibé par cet extrait.

### II.4.3 L'effet de synergisme

Le synergisme serait le phénomène observé lorsque l'effet pharmacodynamique produit par le mélange de deux produits chimiques ou plus n'égale pas la simple somme des effets produit par les constituants pris individuellement, on devrait donc considère qu'il y a synergisme uniquement lorsque l'effet E produit par deux antibiotiques (A et B) est supérieur à la somme des effets d'antibiotique A( $E_A$ ) et l'antibiotique B( $E_B$ ) [39].

$$E > E_A + E_B$$

Les résultats de ce test sont mentionnés dans le tableau suivant :



**Tableau II.5 : Résultats de la combinaison de *C.stricta* avec *C.tamariscifolia*.**

La souche	Combinaison entre <i>C.stricta</i> et <i>C.tamariscifolia</i>	
	Valeur de FICI	L'effet
<i>Escherichia coli</i>	0,75	Addition
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	Addition
<i>Lesteria monocytogenes</i>	0,75	Addition

Le tableau 5 montre les résultats de l'activité de la combinaison d'extrait *C.stricta* avec *C.tamariscifolia* sur les bactéries testées. D'après les résultats obtenus, la combinaison testée présente un effet d'addition sur les trois souches (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Lesteria monocytogenes*), ce qu'implique que l'effet de la combinaison égale à la somme des effets de chaque extrait étudié seul.

Les résultats de la combinaison de deux extraits *C.tamariscifolia* avec *D.spiralis* est mentionné dans le tableau II.6.

**Tableau II.6: Résultats de la combinaison de *C.tamariscifolia* avec *D.spiralis*.**

La souche	Combinaison entre <i>C.tamariscifolia</i> et <i>D.spiralis</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Antagonisme

Le tableau II.6 montre que la combinaison d'extrait *C.stricta* avec *D.spiralis* contre *Bacillus subtilis* présente un effet d'antagoniste et ça veut dire que la combinaison diminue l'effet de l'un des deux extraits .L'activité de cette combinaison est inférieure à la somme des effets de chacun étudié seul.



## Conclusion générale

Le présent travail a été consacré à l'étude des effets de synergisme d'extrait d'algues brunes *Cystoseira stricta* et *Cystoseira tamariscifolia* et *Dilophus spiralis* contre quatre souche bactériennes.

Les extraits ont été obtenus par macération à froid, dans un mélange de solvant méthanol+chloroforme (50/50) avec un rendement moyen de 0.51% pour *C.stricta* et 0.97% pour *C.tamariscifolia* et 0.65% pour l'espèce *D.spiralis*.

Le teste de synergisme dépend de la valeur de CMI et l'interaction entre les extraits étudiés.

Dans cette étude, l'effet obtenus et celui d'addition pour la combinaison d'extrait *C. stricta* avec *C. tamariscifolia*, cela veut dire que l'effet de la combinaison est égale à la somme des effets de chaque extrait étudié seul, et effet d'antagonisme pour la combinaison *C.tamariscifolia* avec *D.spiralis* ce qu'il implique que l'effet de la combinaison est inférieur à l'effet de l'un des deux extraits étudié seul ( la combinaison diminue l'activité de l'un des deux extraits)

D'après cette étude on conclue que la combinaison entre les trois extraits utilisés ne donne pas un effet de synergisme.

## Références bibliographiques :

- [1] Radmer, R.J., Parker, B.C, 1994. Commercial application of algae: opportunities and constraints. *J. Phycol.* 6, p 93-98.
- [2] Durand, J.R., Leveque, C., 1950. Flore et faune aquatiques de l'Afrique Sahelo-Soudanienne, Edition de O.R.S.T.O.M, Paris, Tome 1, p 10-12.
- [3] Chabot, R., Rossignol, A., 2003. Algues et faune du littoral du Saint-Laurent maritime ; guide d'identification, p13.
- [4] Farid, Y., Chennaoui, M., ASSOBBEL, O., Etahiri, S., 2012. Screening des algues marines d'Oualidia a la recherche d'activité antibactérienne et anti-inflammatoire.
- [5] Vincenzo, A., 1995. Marine brown algae of family cystoseiraceae : chemistry and chemotaxonomy, Review article N° 105.
- [6] Ioannou, E. , Quesada, A., Mukhlesur Rahman, M., Gibbons, S., Vagias, C., Roussis, V., 2011. Dolabellanes with Antibacterial Activity from the Brown Alga *Dilophus spiralis*, *Journal of Natural Products*, 74, p 213-222.
- [7] Feldman, J., 1966. Les types biologiques d'algues marines benthiques , *Bulletin de la société botaniques de France*, 113, p 46.
- [8] Ainane, T., 2011. Valorisation de la biomasse algale du Maroc : potentialités pharmacologiques et application environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*, Thèse de doctorat, université Hassan II-Casablanca, Maroc, p 8.
- [9] El Gamal, A., 2010. Biological importance of marine algae. *Saudi pharmaceutical journal*, 18, p 1-25.
- [10] Marfaing, M., Lerat, Y., 2007. Les algues ont-elles une place en nutrition , *Springer Link*, 5, p 3.
- [11] Valls, R., Piovettit, L. The Chemistry of the Cystoseiraceae (Fucales: Phaeophyceae): Chemotaxonomic Relationships[s].
- [12] 1979. Modern Approaches to the Taxonomy of Red and Brown Algae, Book reviews, *Phycologia*, 18(4), p 438-440.
- [13] Ribera, M.A., Gomez Garreta, A., Gallardo, T., Comaci, M., Furnari, G., Giaccone, G., 1992. Check-list of Mediterranean Seaweeds I. Fucophyceae, 35, p109-130.
- [14] Ballesteros, E., Sala, E., Garrabou, J., Zabal, M., 1998. Community structure and frond size distribution of a deep water stand of *Cystoseira Spinosa* (phaeophyta) in the Northwestern Mediterranean, 33, p 121-128.



- [15] Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Ben Rais Lasram, F., Aguzzi, J., Ballesteros, E., Bianchi, C.N., Corbera, J., Dailianis, T., Danovaro, R., Estrada, M., Froglia, C., 2010. The Biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, Patterns, and Threats.
- [16] Pellegrini, M., Valls, R., Pelligrini, L., 1997. Chimiotaxonomie et marqueurs chimiques dans les algues brunes .
- [17] Belmokhtar, M., 2012. *Cystoseira amentacea* v. *stricta*: indicateur de la qualité des eaux côtières de l'ouest algérien, Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de magister université d'Oran, p18.
- [18] Roberts, M., 1970. Studies on marine algae of the British Isles. 8. *Cystoseira tamariscifolia* (Hudson) papenfuss, *British Phycological Journal*, 5(2), p 201-202.
- [19] pellegrini, L., pellegrini, M., 1971. Contribution à l'étude biochimique des cystoseiracées méditerranéennes I *Cystoseira stricta* (Mont.) sauvageau, *Botanica marina*, 14, p 6.
- [20] Ruberto, Baratta, G., Biondi, M., Amico, D., 2001. Antioxydant activity of extracts of the marine algal genus *Cystoseira* in a micellar model system, *Journal of Applied Phycology*, 13(2), p 403-407.
- [21] Bouaicha, N., Pesando, D., Puel, D., 1993. "Cytotoxic Diterpenoides from the brown alga *Dilophus ligulatus*", 56.
- [22] Ioannou, E., Roussis, V., Vagias, C., 2011. Dilospirane A et B présentant de nouvelles unités carboxyliques de l'algue brune *Dilophus spiralis*.
- [23] Ioannou, E., Zervon, M., Ismail, A., ktaria, L., Vagias, C., 2009. Cyclo-xénicane de l'algue brune *Dilophus Fasciola* et *Dilophus spiralis*.
- [24] Michel, J., 2010. a descendance des bactéries, *Revue chimères* N° 73, Editeur ERES, p 99-110.
- [25] 2015, *Pharmacologie et thérapeutiques*, 2eme édition, UE 2.11 - Semestres 1, 3 et 5, p 47-5.
- [26] C. Michel, *Utilisation des antibiotiques en pisciculture*, Note technique N°11 bis.
- [27] DORMAN, H.J.D., 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oil. *Journal of Applied Microbiology*, p 88-308-316.
- [28] Basmaci, R., Cohen, R., 2018, que doit savoir le pédiatre sur *Escherichia Coli* producteur de bêta-lactamase a spectre étendu, Elsevier, *protectionnement en pédiatrie*, 1, p 1-2.
- [29] Ben Abdallah, H., Noomen, S., Ben Elhadj Khélifa, A., Sahnoun, O., Elargoubi, A., Masouri, M., 2008. profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *pseudomonas*



aeruginosa isolées dans la région de Monastir , Elsevier Masson : médecine et maladie infectieuses, 38, p 5054-555.

[30] Ferhat, H., Chachaty, E. , Antoun, S., Nitenberg, G. , Zahar, J.R. , 2008 .infection à bacillus et immunodépression, à propos de deux cas, Elsevier Masson , Médecine et maladies infectieuses, p 612-614.

[31] Benzarti Mezni, A., Mhiri, N., Beji, M., Ben Jemaa, A. , 2010 .Pneumopathie d'hypersensibilité aux enzymes protéolytiques du Bacillus subtilis dans l'industrie de délavage des jean. Présentation d'un cas, Elsevier Masson, Revue française d'allergologie, 50, p 78-79.

[32] Dromigny E., 2009. Bacillus anthracis, Lavoisier, p 6.

[33] Amajoud, N., Leclercq, A., M.Soriano, J., Bracq-Dieye, H., El Maadoudi, M., Skalli Senhaji, N., Kounnoun, A., Moura, A., Lecuit, M., Abrini, J., 2018 .prevalence of Listeria spp and characterization of Listeria monocytogenes isolated from food products in Tétouan, Marocco , Elsevier : food control, 58, p 436.

[34] Kljujev, I., Raicevic, V., jovicie-petrovic, J., vujovic, B., Mirkovic, M., Rothballer, M., 2018 .Listeria monocytogenes-Danger for health safty vegetable production , Elsevier : Microbial pathogenesis, 120, p 23-31.

[35] Jorgensen, J.H., Turnidge, J.D, 2015.Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. Manual of Clinical Microbiology, Eleventh Edition. American Society of Microbiology, p 1253-1273.

[36] Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis, 6, p 71-79.

[37] Basli, A., Chibane, M., Madani, K., Oukil, N., 2012. Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : Origanum glandulosum Desf.

[38] Denes, É., Hidri, N., 2009. Synergie et antagonisme en antibiothérapie, Elsevier Masson, 11, p 107-108.

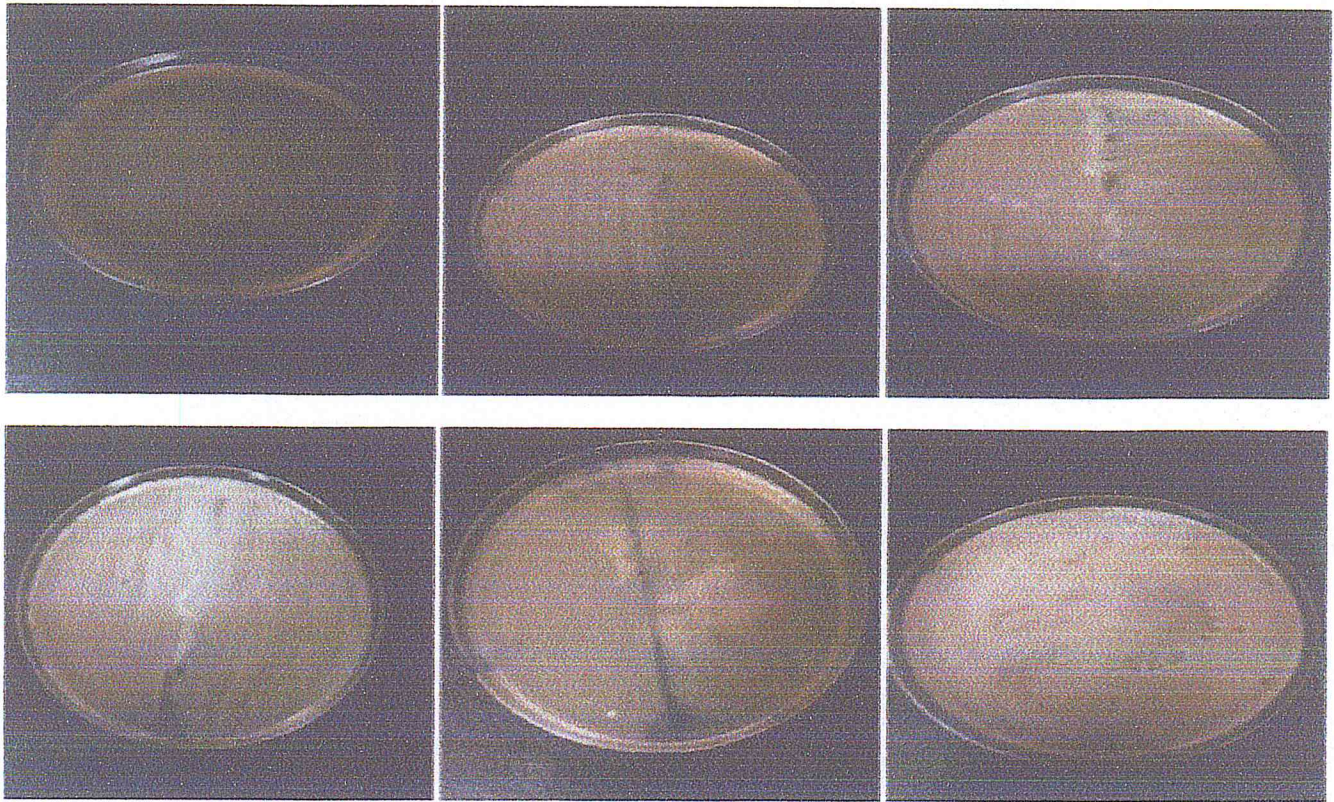
[39] Match, 1991. Effet de synergie, 6, p 99.

# ANNEXES

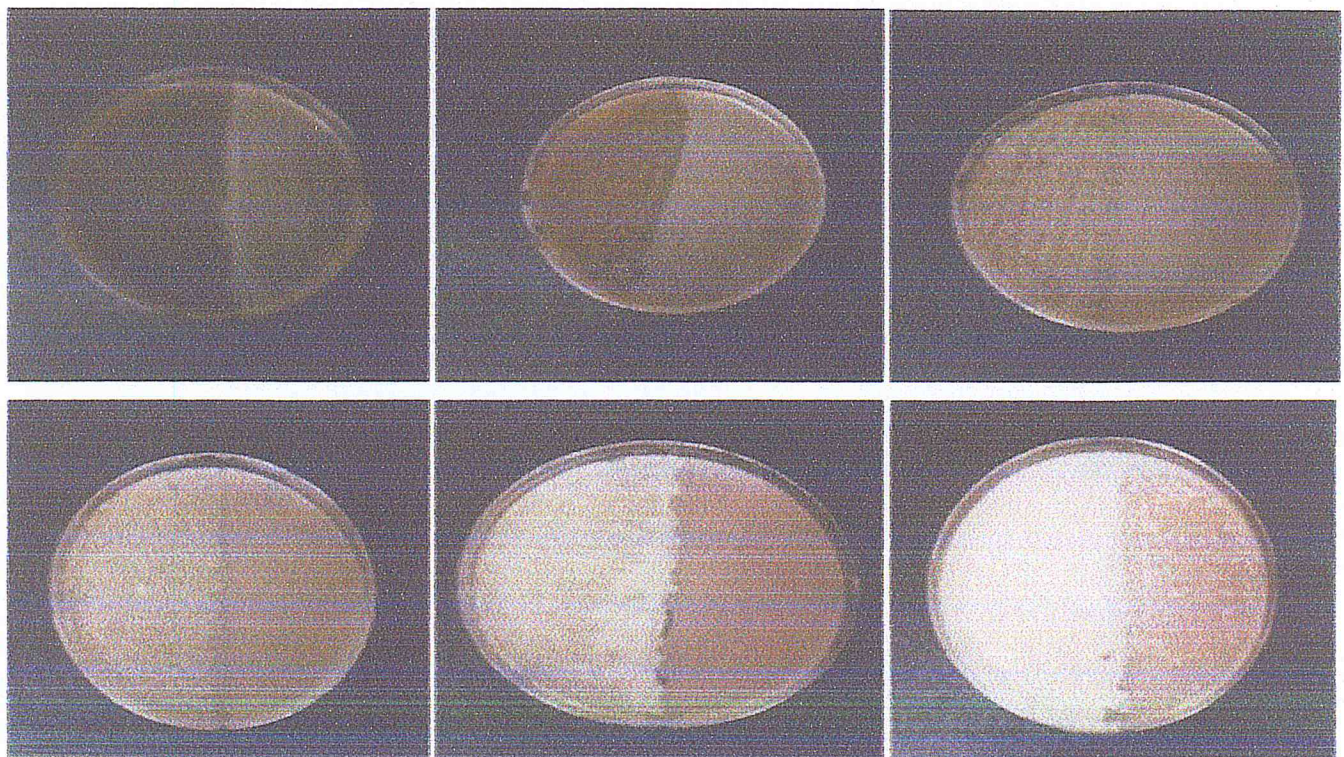


Annexe 1

CMI d'extrait *C.tamariscifolia* : *Escherichia coli* / *Pseudomonas aeruginosa*

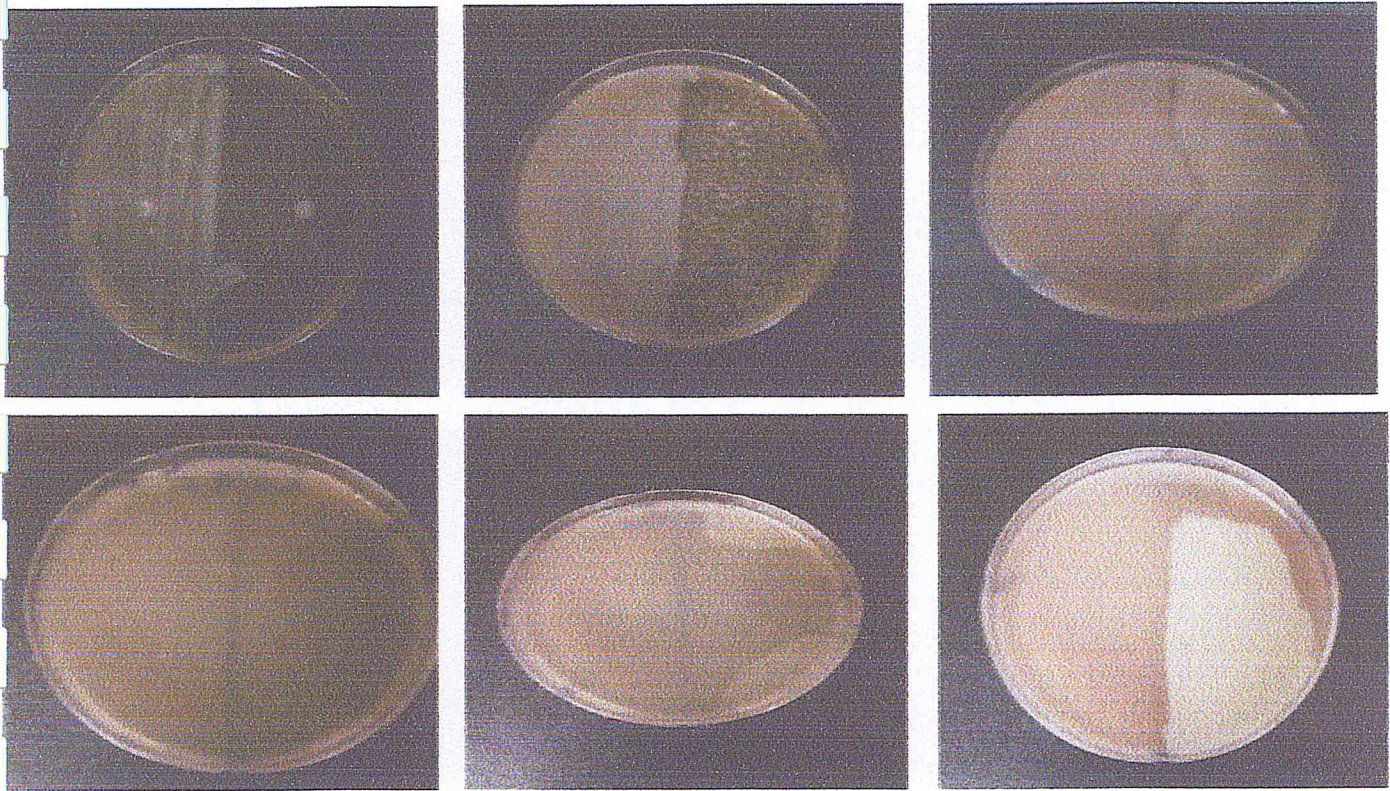


CMI d'extrait *C.tamariscifolia* : *Lesteria monocytogenes* / *Bacillus streptococcus*

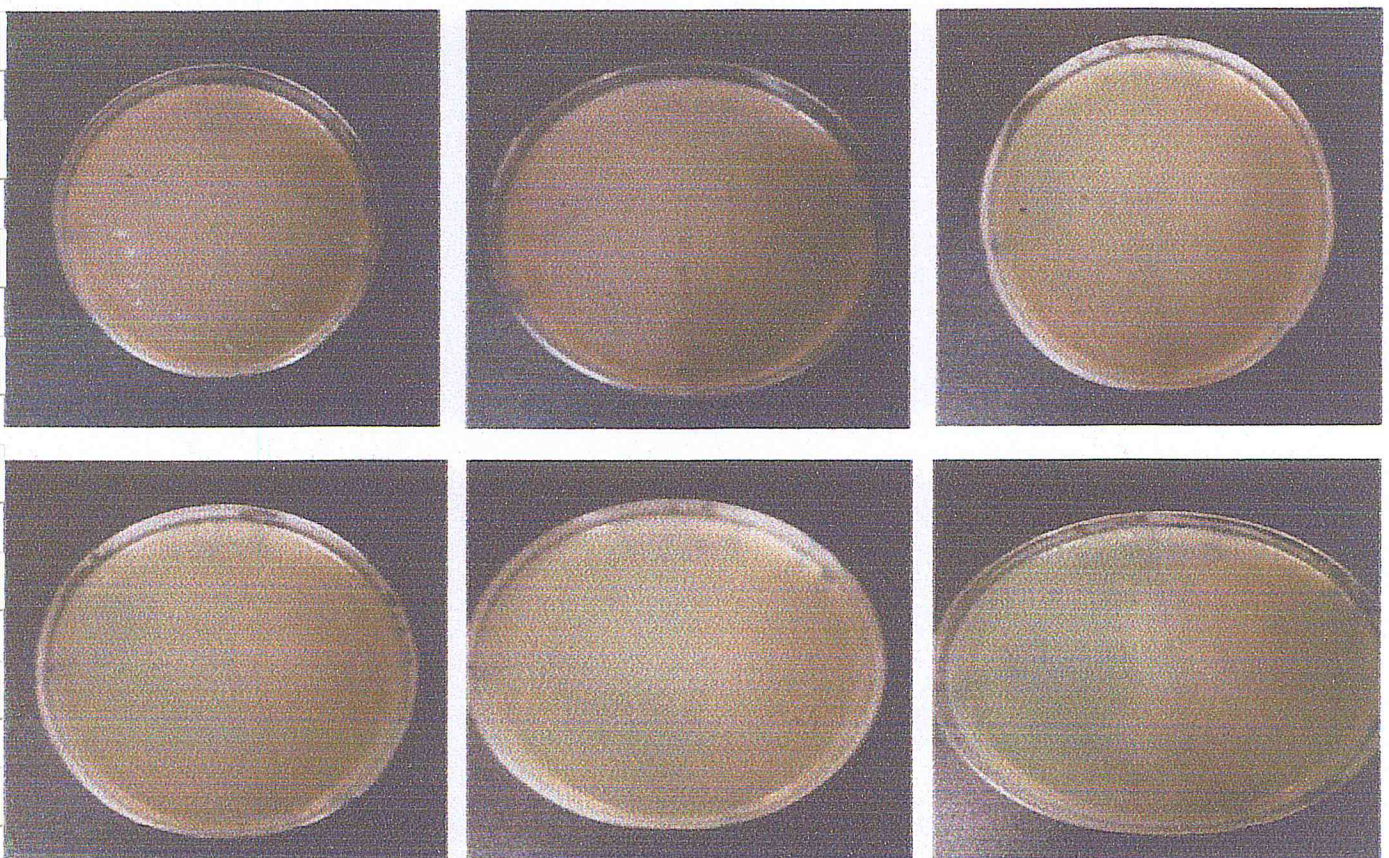




CMI d'extrait *C.stricta* : *Bacillus streptococcus* / *Lesteria monocytogenes*

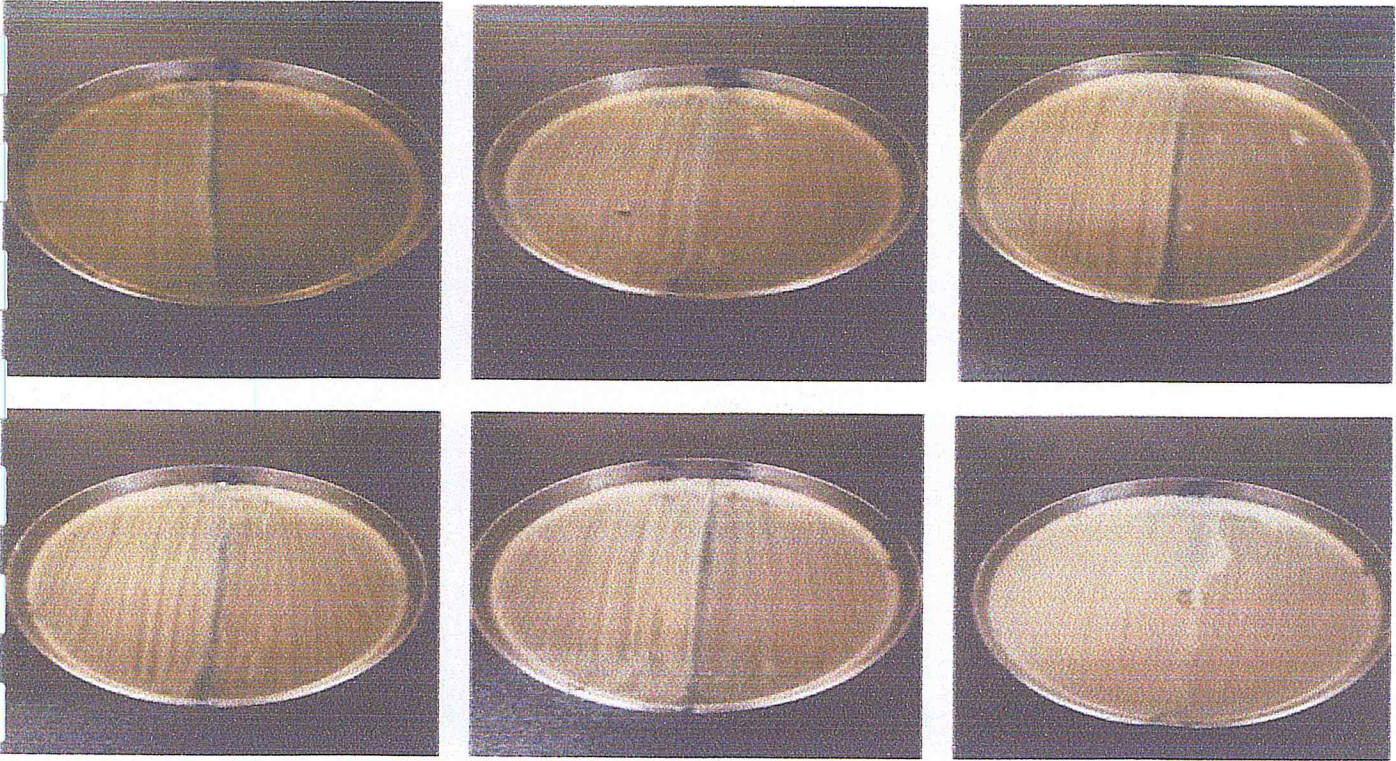


CMI d'extrait *C.stricta* : *Escherichia coli* / *Pseudomonas aeruginosa*

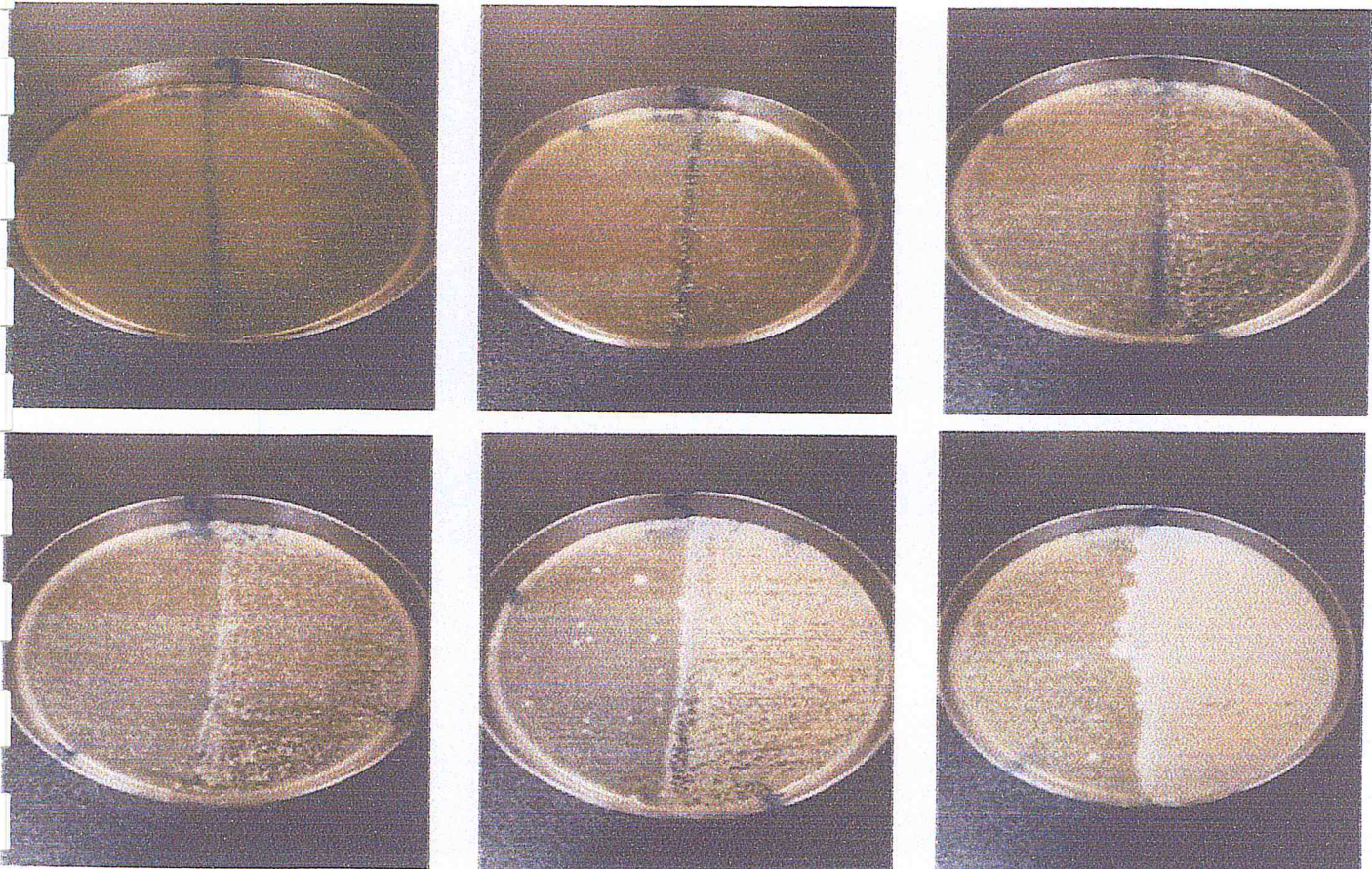




CMI d'extrait *D.spiralis* : *Pseudomonas aeruginosa* / *Escherichia coli*

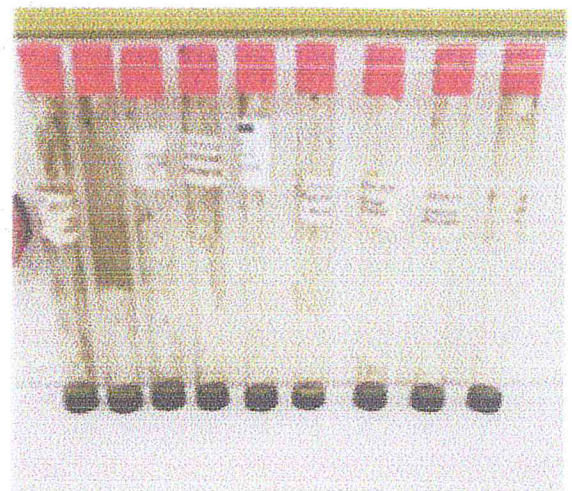
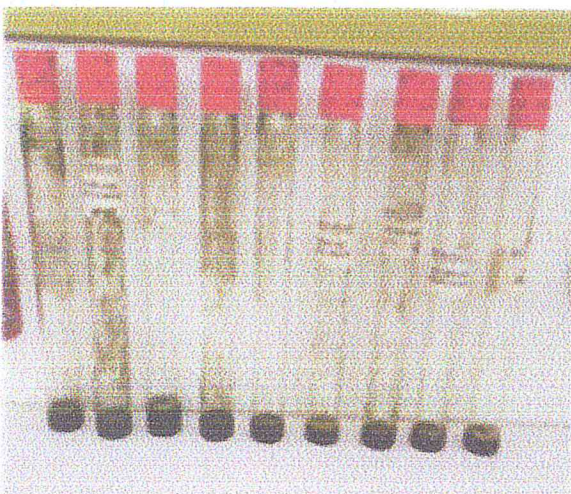
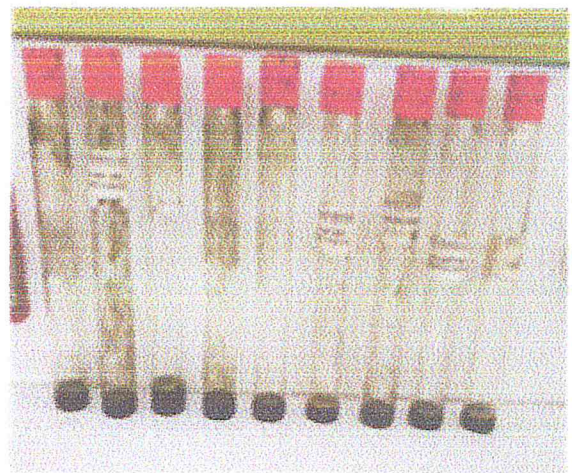
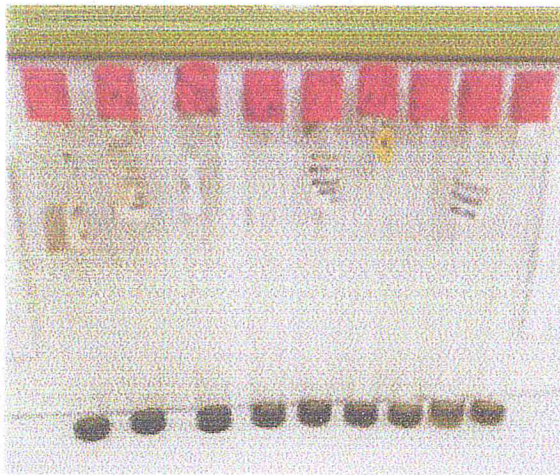


CMI d'extrait *D.spiralis* : *Bacillus streptococcus* / *Lesteria monocytogenes*





Annexe 2



**Les differentes dilutions des extraits de *C.stricta* ;  
*C.tamariscifolia*; *D.spiralis***



Annexe 3



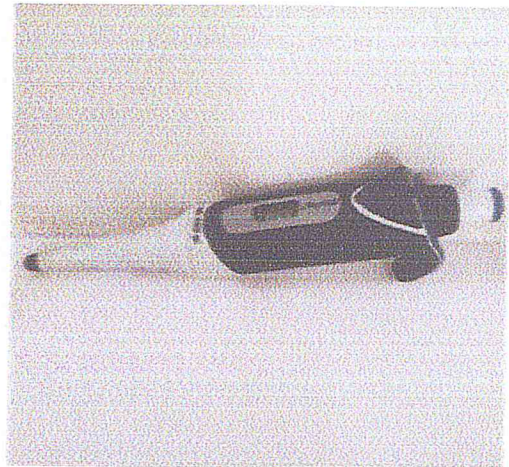
Incubateur rotatif (Schiker)



Autoclave



Balance



Micropipette

