

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955 - SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé :

Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de deux algues marines : Ulva lactuca et Jania rubens dans la région de Skikda

Présenté Par :

BOUMAIZA Rayane, BOUREMA Wassim, LEBSIR Sarah, NETTOUR Islam Eddine

Membre de Jury:

<i>Dr BOULKNAFET F.</i>	<i>Président</i>	<i>Maître de conférences</i>	<i>Univ. 20 Août 1955 Skikda</i>
<i>Dr LAIB I.</i>	<i>Examinatrice</i>	<i>Maître de conférences</i>	<i>Univ. 20 Août 1955 Skikda</i>
<i>Dr BOUHAYENE S.</i>	<i>Promoteur</i>	<i>Maître de conférences</i>	<i>Univ. 20 Août 1955 Skikda</i>
<i>Mme. FERAGUENA I.</i>	<i>Co-promoteur</i>	<i>Doctorante</i>	<i>Univ. 20 Août 1955 Skikda</i>

Année Universitaire

2023-2024



"DEDICACE "

À MES CHERS PARENTS

Qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

À MES FRÈRES,

Houssem Eddine et Nadir

À MES COUSINES,

Nessrine, Fika, Ines, Sirine, Norhene, Nawal. Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

À MES GRANDS PARENTS, À MES TANTES et À TOUTE LA FAMILLE,
Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

À MES AMIES,

Sara with H, Ines, Rania, Yassmine, Pour leurs indéfectible soutiens et leurs patience infinies.

À MON FIANCÉ,

Qui m'a aidé et supporté

Rayane



DEDICACE

Je dédie ce travail

A mon adorable mère pour son soutien et ses encouragements.

A mon cher père pour ses sacrifices, ses conseils et ses encouragements.

A tous mes proches, mes amis et mes frères (ECN « SECTION 6 »)

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui m'ont soutenu que ce soit de près ou de loin, tout au long de mon parcours. Je vous remercie infiniment.

A toute la famille BOUREMA et MEDBOU

Wassim



"*DEDICACE*"

Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie :

À mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié maman.

À celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'Amour et d'affection. A mon support qui était toujours à mes côtés pour m'encourager, mon cher papa.

À mes Sœurs de cœur YOUSRA et SYRINE.

Sans oublier mes âme sœurs « HOMIES « Rayane, Inès, Rania et Yass pour leur soutien moral, patience et compréhension tout au long de ce projet.

À tous mes collègues de la promo M2 microbiologie appliquée.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui m'ont soutenu, que ce soit de près ou de loin, tout au long de mon parcours. Je vous remercie infiniment.

À toute la famille LEBSIR et BOUDROUMA et à tous ceux que j'aime.

Sarah



"*DEDICACE*"

Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance,
je dédie ma remise de diplôme et ma joie

À mon paradis, à la prunelle de mes yeux à la source de ma joie et mon bonheur,
ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié maman.

À celui qui m'a fait un homme, ma source de vie, A mon support qui était
toujours à mes côtés pour m'encourager, mon cher papa

À mes Sœurs de cœur et ses maris et leurs enfants quelles me donnent la force et
l'envie et l'ambition pour je m'installe dans le bon sens

Ni au moins tous la famille Nettour qui joue un rôle primordial dont ce que je
suis

Sans oublier mes amis pour leur soutien moral, patience et compréhension tout
au long de ce projet.

À tous mes collègues de la promotion M2 microbiologie appliquée

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui m'ont
soutenu que ce soit de près ou de loin, tout au long de mon parcours. Je vous
remercie infiniment.

Islam Eddine

Remerciements

Nos remerciements vont avant tout, à DIEU le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces longues années d'études afin que nous puissions arriver à ce stade. Et inshallah aller encore plus loin dans un accomplissement personnel et professionnel.

Nos vifs remerciements vont d'abord aux membres du jury, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail en acceptant de l'examiner et d'enrichir le débat par leurs propositions.

Nous tenons aussi à présenter nos sincères remerciements à notre encadrant **Dr BOUHAYENE SALAH** pour la qualité de son encadrement exceptionnel, sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire. Nous sommes extrêmement fiers d'avoir travaillé avec lui.

Nous tenons aussi à remercier **Dr BOULKNAFET FOUZI** pour avoir accepté de présider le jury de notre mémoire. Nous remercierons vivement **Dr LAIB IMEN** de bien vouloir acceptée de juger notre travail.

Nous remercierons aussi la doctorante **Mme FERAGUENA IMANE** pour les nombreuses discussions scientifiques et les conseils qu'elle nous a prodigués. Avoir travaillé avec elle nous amène à lui exprimer notre profonde gratitude, tant pour sa compétence scientifique que pour ses qualités humaines.

Nous remercions également toute l'équipe du laboratoire pour leur aide, leur disponibilité, leur compréhension et leur patience tout au long de notre stage.

Par la même occasion on remercie nos enseignants de la filière de Microbiologie appliquée. Finalement, nous remercions tous ceux qui nous ont contribués de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

Résumé

Les algues sont une source potentiellement riche en métabolites, parmi ces métabolites, on retrouve les vitamines, les acides gras, les antioxydants comme les polyphénols. Dans le cadre de la valorisation de la biomasse algale marine de la côte Algérienne, cette étude se consacre à l'étude phytochimique et l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne de deux espèces d'algues marines : *Ulva lactuca* et *Jania rubens* collectées de la côte de Skikda. Les résultats indiquent un rendement élevé pour *Ulva lactuca* 2,5%. Les teneurs les plus élevées en composés phénoliques totaux sont obtenues par l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca* ($0,59 \pm 0,05$ mg EAG/mg extrait sec), les faibles teneurs sont obtenues avec *Jania rubens* ($0,49 \pm 0,05$ mg EAG/mg extrait sec). Pour les flavonoïdes une différence significative entre *Ulva lactuca* et *Jania rubens* ($0,071 \pm 0,001$, $0,065 \pm 0,0005$ mg EQ/gES) respectivement, une teneur en tannins proche pour les deux algues $3,353 \pm 0,011$ mg EAT/g ES pour *Ulva lactuca* et $3,573 \pm 0,011$ mg EAT/g ES pour *Jania rubens*. L'étude du pouvoir antioxydant, révèle la présence de propriétés antioxydantes pour les deux extraits étudiés, le pourcentage d'inhibition le plus marquant est 97,14%, pour *Ulva lactuca* et 96,28% pour *Jania rubens* les deux sont enregistrés avec la concentration de l'extrait éthanolique (1mg /ml), quant au test de l'ABTS, les résultats présentent une activité antioxydante pour *Jania rubens* avec un IC50 de $0,2838 \pm 0,0041$ mg/ml et de $0,3762 \pm 0,1913$ mg/ml pour *Ulva lactuca*, pour la réduction du CUPRAC, les résultats présentent une activité antioxydante avec un IC50 d'une valeur de $150,39 \pm 0$ mg/ml pour *Jania rubens* et de $190,38 \pm 0$ mg/ml pour *Ulva lactuca*. L'activité antimicrobienne des deux algues montre que *Jania rubens* a donné un meilleur effet inhibiteur par rapport à *Ulva lactuca* vis-à-vis les souches testées. Les CMI et les CMB les plus faible ont été enregistrées pour *Ulva lactuca* ($0,0081$ mg/ml et $0,004$ mg/ml respectivement) vis-à-vis de la souche *Pseudomonasa aeruginosa*. Par ailleurs, l'étude de l'effet des deux algues sur les souches testées indique qu'*Ulva lactuca* a donné un effet bactéricide contre trois bactéries, par contre *Jania rubens* a donné un effet bactéricide que sur deux souches. L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives à partir d'algues marines. Des essais complémentaires sont envisagés pour confirmer la bioactivité des algues marines.

Mots clés : Algues, *Ulva lactuca*, *Jania rubens*, activité antioxydante, antimicrobienne

Summary

Algae are a potentially rich source of metabolites, including vitamins, fatty acids, and antioxidants such as polyphenols. In the context of valorizing marine algal biomass from the Algerian coast, this study focuses on the phytochemical analysis and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of two marine algae species, *Ulva lactuca* and *Jania rubens*, collected from the coast of Skikda. The results indicate a high yield for *Ulva lactuca* at 2.5%. The highest total phenolic compound contents are found in the ethanolic extract of *Ulva lactuca* (0.59 ± 0.05 mg EAG/mg dry extract), while lower contents are observed in *Jania rubens* (0.49 ± 0.05 mg EAG/mg dry extract). Significant differences in flavonoid content are noted between *Ulva lactuca* and *Jania rubens* (0.071 ± 0.001 and 0.065 ± 0.0005 mg EQ/g DE, respectively), whereas similar tannin contents are found in both algae (3.353 ± 0.011 mg EAT/g DE for *Ulva lactuca* and 3.573 ± 0.011 mg EAT/g DE for *Jania rubens*). Regarding antioxidant activity, both extracts exhibit antioxidant properties, with the most notable inhibition percentages being 97.14% for *Ulva lactuca* and 96.28% for *Jania rubens* at an ethanol extract concentration of 1 mg/ml. In the ABTS assay, *Jania rubens* shows antioxidant activity with an IC₅₀ of 0.2838 ± 0.0041 mg/ml, while *Ulva lactuca* exhibits a higher IC₅₀ value of 0.3762 ± 0.1913 mg/ml. In the CUPRAC assay, *Jania rubens* demonstrates an IC₅₀ of 150.39 ± 0 mg/ml, compared to 190.38 ± 0 mg/ml for *Ulva lactuca*. Regarding antimicrobial activity, *Jania rubens* shows stronger inhibitory effects compared to *Ulva lactuca* against the tested strains. *Ulva lactuca* exhibits the lowest MIC and MBC values against *Pseudomonas aeruginosa* (0.0081 mg/ml and 0.004 mg/ml, respectively). Additionally, *Ulva lactuca* demonstrates bactericidal effects against three bacterial strains, whereas *Jania rubens* shows bactericidal effects against two strains. These in vitro results represent an initial step in exploring biologically active natural substances from marine algae. Further studies are necessary to confirm the bioactivity of marine algae.

Keywords: Algae, *Ulva lactuca*, *Jania rubens*, antioxidant activity, antimicrobial activity

المخلص

الطحالب مصدر غني بالمركبات الأيضية، من بين هذه المركبات تتضمن الفيتامينات، الأحماض الدهنية، ومضادات الأكسدة مثل البوليفينولات. في إطار تقييم الاستفادة من الكتلة الحيوية للطحالب البحرية على سواحل الجزائر، تركّز هذه الدراسة على الدراسة الفيتوكيميائية وتقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات لنوعين من الطحالب البحرية *Jania* و *Ulva lactuca*. أظهرت المجموعتين من سواحل سكيكدة. أظهرت النتائج معدل عالي لنبات البحر *Ulva lactuca* بنسبة 2.5% كما أظهرت المستخلصات الإيثانولية ل *Ulva lactuca* أعلى تراكيز للمركبات الفينولية الكلية 0.59 ± 0.05 ملغ / EAG من الاستخلاص الجاف بينما كانت التراكيز أقل ل *Jania rubens* 0.49 ± 0.05 ملغ / EAG من الاستخلاص الجاف بالنسبة للفلافونويدات، كان هناك فرق ملحوظ بين *Ulva lactuca* و *Jania rubens* ($0,071 \pm 0,001$, $0,065 \pm 0,0005$ mg EQ/gES) على التوالي، وكانت التركيزات في التانينات متقاربة بين الطحالبين 3.353 ± 0.011 ملغ EAT / g ES ل *Ulva lactuca* و 0.011 ± 3.573 ملغ EAT / g ES ل *Jania rubens* كشفت دراسة القدرة المضادة للأكسدة عن وجود خصائص مضادة للأكسدة للمستخلصات الاثنين المدروسة، وكانت أبرز نسبة تثبيط هي 97.14% ل *Ulva lactuca* و 96.28% ل *Jania rubens* وكانت النتائج مسجلة باستخدام تركيز 1 ملغ / مل. أما في اختبار ABTS، فقد أظهرت *Jania rubens* نشاطاً مضاداً للأكسدة بقيمة IC_{50} تبلغ 0.2838 ± 0.0041 ملغ / مل، بينما كانت قيمة IC_{50} ل *Ulva lactuca* تبلغ 0.1913 ± 0.3762 ملغ / مل. بالنسبة لاختبار CUPRAC، فقد أظهرت النتائج نشاطاً مضاداً للأكسدة بقيمة IC_{50} قدرها 0 ± 150.39 ملغ / مل ل *Jania rubens* و 0 ± 190.38 ملغ / مل ل *Ulva lactuca* أما بالنسبة للنشاط المضاد للميكروبات، فأظهرت *Jania rubens* تأثيراً مثبطاً أفضل بالمقارنة مع *Ulva lactuca* تجاه السلالات المختبرة. سُجلت أقل قيم للحد الأدنى للتركيز المثبط (CMI) والحد الأدنى للتركيز القاتل (CMB) ل *Ulva lactuca* (0.0081 ملغ / مل و 0.004 ملغ / مل على التوالي) تجاه سلالة *Pseudomonasa aeruginosa* بالإضافة إلى ذلك، أظهرت دراسة تأثير الطحالبين على السلالات المختبرة أن *Ulva lactuca* أظهرت تأثيراً مبيد ضد ثلاثة بكتيريا، بينما أظهرت *Jania rubens* تأثيراً مبيد فقط ضد سلالتين. جميع هذه النتائج التي تم الحصول عليها في الاختبارات الحيوية *in vitro* تشكل مرحلة أولى في البحث عن المركبات الطبيعية النشطة بيولوجياً من الطحالب البحرية. ومن المخطط إجراء المزيد من الاختبارات لتأكيد النشاط البيولوجي للطحالب البحرية.

الكلمات المفتاحية: طحالب, *Ulva lactuca*, *Jania rubens*, مضادات الأكسدة, مضادات الميكروبات

Sommaire

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

INTRODUCTION 01

CHAPITRE I : Synthèse bibliographique

1. Généralités sur les algues marines	03
1.1. La Classification des algues	03
1.1.1. Les Rhodophytes	03
1.1.2. Les Chlorophycées	04
1.1.3. Les Phéophycées	04
1.1.4. Les Cyanobactéries	04
1.2. Les Principales utilisations	05
1.3. Les composants chimiques des algues	06
1.3.1. Les éléments minéraux	06
1.3.2. Les lipides	06
1.3.3. Les protéines	07
1.3.4. Les vitamines	07
1.3.5. Les caroténoïdes	08
1.3.6. Les polysaccharides	08
1.3.7. Les fibres	08
1.4. Les métabolites secondaires.....	09
1.4.1. Les composés phénoliques.....	09
1.4.2. Les flavonoïdes	09
1.4.3. Les tannins	09
1.4.4. Les isoprénoides (Terpénoides)	10
1.4.5. Les alcaloïdes	10
2. Les activités biologiques.....	10
2.1. Les activités antioxydantes.....	10
2.2. L'activité antimicrobienne	11
3. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées	11

CHAPITRE II. Matériel et méthodes

1. Le matériel biologique	13
1.1. La récolte et zones d'échantillonnage	13
1.1.1. La technique d'échantillonnage	13
1.1.2. Les zones d'échantillonnage	14
1.2. La préparation des extraits éthanoliques.....	14
1.2.1. Le Séchage	16
1.2.2. Le Broyage	16
1.2.3. L'extraction par macération dans l'éthanol (extraction solide/liquide)	17
1.2.4. L'évaporation	17
1.3. Le Dosage des composés phénoliques	19

1.3.1. Le Dosage des polyphénols totaux	19
1.3.2 Le Dosage des flavonoïdes.....	20
1.3.3. Le Dosage des tanins.....	21
1.4. L'évaluation de l'activité antioxydante.....	22
1.4.1. La Méthode du 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (DPPH)	22
1.4.2. La Méthode de l'acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique (ABTS)	24
1.4.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)	25
1.5. L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique des deux algues marines étudiées	26
1.5.1. Le repiquage des souches microbiennes.....	27
1.5.2. La vérification des souches	28
1.5.3. La préparation des inoculums.....	29
1.5.4. La réalisation des tests d'activité antimicrobienne.....	30
1.5.5 La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)	30
1.5.6 La détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)	31
1.5.7. La détermination du rapport CMB/CMI	32
1.6. La partie statistique.....	32

CHAPITRE III : Résultats et discussions

1. Détermination du rendement	35
2. Résultats des teneurs en composés phénoliques des deux algues	36
2.1. Teneurs en polyphénols totaux	36
2.2. Teneur en flavonoïdes.....	37
2.3. Teneur en tanins	39
3. L'évaluation de l'activité antioxydante	40
4. L'activité antimicrobienne	42
4.1. La vérification des souches	42
4.1.1. L'observation macroscopique	42
4.1.2. L'observation microscopique	42
4.2. L'activité antimicrobienne	43
4.2.1. L'effet de l'extrait de <i>Jania rubens</i> sur les souches testées	44
4.2.2. L'effet de l'extrait d' <i>Ulva lactuca</i> sur les souches testées	46
4.2.3. Comparaison de l'activité antimicrobienne des deux espèces d'algues marines	49
4.3. Détermination des CMI et CMB	50
4.3.1. Détermination de l'effet des extraits des deux algues	51
Conclusion	53
Références bibliographiques	55
Annexes	67

Liste des tableaux

Tab.	Intitulé	Page
01:	Caractéristiques importantes des groupes d'algues (Demoulain et Leymergie, 2009)	05
02 :	Classification des deux types d'algues	15
03 :	Différentes souches microbiennes testées	27
04 :	Rendement d'extraction éthanolique des deux algues	35
05 :	Teneur en polyphénols totaux	37
06 :	Teneurs en flavonoïdes (mgEQ/g ES)	38
07 :	Teneurs en tanins (mg EAT/g d'extrait sec)	39
08 :	Valeurs d'IC50 (mg/ml) de l'extrait éthanolique des deux algues	40
09 :	Récapitulatif des paramètres de l'activité antimicrobienne des deux algues	51
10 :	Nature de l'activité des extraits éthanoliques des deux algues sur les souches testées.	52

Liste des Figures

Fig.	Intitulé	Page
01	Echantillonnage des deux types algues	13
02	Photographie de la Plage paradis	14
03	Photographie de la petite plage	14
04	Situation géographique des stations de prélèvement	15
05	Séchage des deux types d'algues	16
06	Broyage des deux types d'algues	16
07	Macération de la poudre d'algue	17
08	Dispositif de l'évaporateur rotatif	18
09	Les étapes de détermination du rendement des deux extraits	19
10	Dosage des polyphénols totaux	20
11	Dosage des flavonols	21
12	Dosage des tannins	22
13	Mécanisme d'action du DPPH	22
14	Le test de l'activité antioxydante par DPPH	23
15	Le test de l'activité antioxydante par ABTS	25
16	Réduction du complexe chromogène de Cu^{+2} -Nc.	25
17	Test de l'activité antioxydante par réduction cuprique	26
18	Repiquage des souches microbiennes	27
19	Etapes de la coloration de Gram	29
20	Préparation des inoculums	29
21	Test de l'activité antimicrobienne	30
22	Etapes de détermination de la CMI	31
23	Etapes de détermination de la CMB	32
24	Rendement d'extraction en (%) des deux algues	35
25	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.	36
26	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.	38
27	Courbe d'étalonnage de l'acide tannique	39
28	Aspect macroscopique des bactéries à Gram positives	41
29	Aspect macroscopique des bactéries à Gram négatives	41
30	Aspect macroscopique de <i>Candida albicans</i>	42
31	Observation microscopique des bactéries à Gram positives (X100)	42

32	Observation microscopique des bactéries à Gram négatives (X100)	42
33	Observation microscopique de <i>Candida albicans</i> (X100)	42
34	Photographies des zones d'inhibition de l'extrait de <i>Jania rubens</i>	43
35	Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait de <i>Jania rubens</i> testé sur dix souches	44
36	Photographies des zones d'inhibition de l'extrait d' <i>Ulva lactuca</i>	46
37	Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait d' <i>Ulva lactuca</i> testé sur dix souches	46
38	Comparaison de l'activité antimicrobienne des deux algues sur les souches testées	49
39	Photographie de la microplaque pour les CMI de l'extrait de <i>Jania rubens</i>	50
40	Photographie de la microplaque pour les CMI de l'extrait d' <i>Ulva lactuca</i>	51
41	Effet bactéricide de <i>Jania rubens</i>	52
42	Effet bactériostatique de <i>Jania rubens</i>	52
43	Effet bactéricide d' <i>Ulva lactuca</i>	52
44	Effet bactériostatique d' <i>Ulva lactuca</i>	52

Liste des abréviations

- ABTS**: La Méthode de l'acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
- CUPRAC**: Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre.
- [C]**: Concentration.
- °C**: Degré Celsius.
- CG**: Cordonnées Géographiques.
- Cm**: Centimètre.
- CMI**: La détermination des concentrations minimales inhibitrices.
- CMB**: La détermination des concentrations minimales bactéricides.
- DO**: Densité Optique.
- DPPH**: Radical 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl.
- EAG**: Equivalent d'acide gallique.
- EQ**: Équivalent de quercitine.
- ES**: Extrait SEC.
- EAT**: équivalent d'acide tannique.
- H₂O**: Eau.
- HCL**: Acide chlorhydrique.
- H₂SO₄**: Acide sulfurique.
- IC50**: Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical.
- K₂S₂O₈**: Persulfate de potassium.
- MH**: Mueller-Hinton.
- M**: Mole.
- m**: Masse.
- Mg**: Milligramme.
- ml**: Millilitre.
- mm**: Millimètre.
- mM**: Milli mole.
- Mini tab 19**: Un logiciel de statistique et d'analyse de données.
- m/v**: Masse/Volume.
- nm**: Nanomètre.
- Na₂CO₃**: Carbonate de sodium.
- ND**: Non Déterminé.
- p/v**: Poids / Volume.
- pH**: Potentiel hydrogène.
- P**: Probabilité.
- Qgis 2023**: Système d'information géographique (SIG) convivial distribué sous licence publique générale.
- Tr**: Tours.
- UV**: Radiations ultra-violettes.
- UFC**: Unités Formant Colonies.
- V**: Volume.
-

Introduction



ALGUES VERTES



ALGUES ROUGES

Introduction

Le milieu marin et les organismes qui l'habitent constituent une source infinie de molécules actives à structure chimique originale (Smit, 2004 ; Glombitzaet al., 1979). Ces composés sont synthétisés par des voies métaboliques différentes de celles observées en milieu terrestre. Parmi les organismes marins, les algues, qui sont le plus souvent fixées sur un substrat, élaborent des défenses chimiques pour empêcher leur colonisation par d'autres espèces, y compris les micro-organismes (Steinberg et Schneider,1997 ; Paul et Fenical, 1987).

Les algues sont des végétaux beaucoup moins connus que les plantes terrestres et beaucoup plus difficiles à appréhender. Elles occupent en grande partie les milieux aquatiques, en particulier marins et constituent un ensemble d'organismes extrêmement divers qu'il est fort difficile de présenter de manière univoque (Person et al., 2010). Environ 6000 espèces d'algues ont été identifiées et sont regroupées en différentes catégories à savoir les algues vertes (Chlorophytes), brunes (Phéophytes), rouges (Rhodophytes) et bleues (cyanobactérie) (Cabioc'h et al., 1992).

L'utilisation des algues marines à des fins thérapeutiques est loin d'être un phénomène nouveau. Si les principes actifs extraits d'algues utilisés en pharmacie sont peu nombreux, les travaux scientifiques en cours sont importants. Des milliers de molécules ont ainsi été identifiées. Ce sont des polysaccharides, des lipides ou encore des petits métabolites de nature phénolique (Deslandes et al., 2000) ou terpénique (Fleury et al., 1994 ; Ravi et al., 1982).

Les activités décrites et associées aux algues marines sont très diverses : antimicrobiennes (Etahiriet al., 2007 ; Reichelt et al.,1984) anti-malariales(Wright et al.,1997) antioxydantes (Zubiaet al., 2007 ; Etahiriet al., 2001), anti-inflammatoires (Etahiriet al., 2004), cytotoxiques (Ktari et Guyot, 1999), antivirales (Cacamesseet al., 1980) ainsi que d'autres activités

Etant donné le large éventail d'activités associées aux algues marines particulièrement antioxydantes et antimicrobiennes, et face à l'apparition de formes résistantes de plusieurs bactéries à certains antibiotiques, la recherche de nouvelles molécules actives est devenue une nécessité. Ainsi, l'exploration du milieu marin Algérien dans ce sens pourrait être d'un grand intérêt.

Dans le cadre de la recherche sur les algues marines, Il existe peu de données et d'études évaluant le potentiel antioxydant et antimicrobien de ces algues en Algérie, c'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de recherche dont l'objectif est d'étudier l'effet de l'extrait éthanolique de deux algues une verte *Ulva Lactuca* et l'autre rouge *Jania rubens* sur les activités antioxydante et antimicrobienne.

Notre étude s'articule comme suit :

Une synthèse bibliographique représentant le premier chapitre de notre travail qui regroupe les informations essentielles sur les algues et éventuellement leurs pouvoirs antioxydants et antimicrobiens.

Le deuxième chapitre de notre travail, illustre le matériel biologique utilisé ainsi les méthodes d'étude et d'expression des résultats.

Le troisième chapitre, présente les résultats et leurs discussions en les comparants à ceux publiés dans la littérature scientifique nationale et internationale.

L'étude est achevée par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus et éventuellement des perspectives d'avenir pour la recherche dans ce contexte.

Chapitre I



Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Généralités sur les algues marines

Les algues sont des végétaux qui ne possèdent ni tiges, ni feuilles, ni racines. Leur corps est un thalle, d'où leur nom est thallophyte. Les algues sont des organismes aquatiques capables de produire leur propre matière organique par photosynthèse. Elles ont des formes et des dimensions très variables. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur, mais elles ont toutes des caractères communs. Elles sont essentiellement aquatiques dans les eaux douces ou marines, et certaines vivent sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes d'autres au contraire supportent des températures élevées (algues thermophiles) dans les eaux des sources thermales. Près de 30.000 espèces d'algues soit 18% du règne végétal ont été répertoriées jusqu'à aujourd'hui, les macro-algues ont suscité beaucoup d'études (**Leclerc *et al.*, 2010**).

1.1. La Classification des algues

La classification des algues peut être complexe, elle repose sur cinq critères, dont trois critères biochimiques qui sont : la nature des pigments photosynthétiques, la nature des polyholosides de réserve et la nature des polyholosides de soutien. Et les deux autres critères morphocytologiques qui concernent le type de flagelle et certains détails de la structure cellulaire. Cette classification peut être simplifiée en considérant quatre groupes : les algues brunes, les algues rouges, les algues vertes et les algues bleues (Tab. 01).

1.1.1 Les Rhodophytes

Les rhodophytes, ou algues rouges, tirent leur nom de la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments, dont les chlorophylles. Ce sont des algues annuelles regroupant 3500 espèces, parmi lesquelles les plus consommées sont les algues dulces, nori et les carraghénanes (**Géraldine *et al.*, 2009**). Principalement marines et majoritairement pluricellulaires, elles se divisent en deux groupes : celui des Bangiophycées (qualifiées de primitives) et celui des Floridéophycées (plus complexes). Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe (**Garon-Lardiere, 2004**). Les algues rouges produisent des glucides de faible poids moléculaire, analogues au glycogène, appelés amidon floridéen, mais pas d'amidon proprement dit (**Viola *et al.*, 2001**).

1.1.2 Les Chlorophycées :

Comme leur nom l'indique, sont principalement des algues de couleur verte, cette teinte étant attribuée à la composition pigmentaire de leurs chloroplastes. Parfois, cette couleur verte est masquée par la présence de pigments de type carotène, ce qui peut donner à certaines chlorophycées une teinte rouge. Sous une forte exposition au soleil, d'autres peuvent prendre une teinte jaunâtre (**Cabioc'h et al., 1992**). Elles adoptent des formes très variées, qu'elles soient unicellulaires ou pluricellulaires. Leurs chloroplastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, auxquelles s'associent des caroténoïdes et des xanthophylles. La photosynthèse leur permet de produire de l'amidon, tout comme les plantes supérieures. La plupart des algues vertes vivent en eau douce ou dans des environnements marins, mais certaines espèces peuvent également prospérer sur terre. Elles jouent un rôle crucial dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale (**Garon-Lardiere, 2004**).

1.1.3. Les Phéophycées :

Ce sont des algues annuelles dont on dénombre 1500 espèces. Elles peuvent atteindre 50 mètres de long (**Géraldine et al., 2009**). La couleur brune de ces algues est due aux pigments xanthophylles, la fucoxanthine, qui masquent les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le bêta-carotène). Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient des éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens. La grande majorité des algues brunes sont marines (**Garon-Lardiere, 2004**).

Les produits du métabolisme dissous dans les vacuoles sont surtout de la laminarine et du mannitol. Il y a souvent des lipides mais jamais d'amidon. Les parois cellulaires, pauvres en cellulose, sont surtout formées d'alginate et de fucoïdine (**Viola et al., 2001**).

1.1.4. Les Cyanobactéries :

Elles sont connues sous le nom d'algues bleues, se présentent sous forme de colonies aux tailles, formes et couleurs très variables. Comme les algues rouges, elles possèdent des pigments supplémentaires bleus (phycocyanine) et rouges (phycoérythrine) qui masquent la chlorophylle a. Malgré leur appellation ancienne d'algues bleues, elles sont rarement de cette couleur, mais plutôt rouges, vertes avec des reflets bleutés, violettes, brunes, jaunes ou orangées. La plupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse voire gluante en raison des mucilages qu'elles sécrètent (**Garon-Lardiere, 2004**).

Tableau 01 : Caractéristiques importantes des groupes d'algues (Demoulin et Leymergie, 2009)

Embranchement (Règne)	Nom commun	Nombre d'espèces	Pigments	Habitat
Chlorophytes (Protistes)	Algues vertes	7500 d'espèces	Chlorophylle (a, b) Xanthophylles Carotènes	Eau douce, saumâtre salée et terrestre
Phéophytes (Plantes)	Algues brunes	1500 d'espèces	Chlorophylle (a, c) Xanthophylles Carotènes Fucoxanthine	Eau salée et saumâtre
Rhodophytes (plantes)	Algues rouges	3900 d'espèces	Chlorophylle (a) Xanthophylles Carotènes, Zéaxanthine, Phycocyanine C, Phycoérythrine	Eau douce, saumâtre et salée
Cyanophytes (Procarvates)	Cyanobactéries, Algues bleues	15000 d'espèces	Chlorophylle (a), Allophycocyanines, Phycocyanine, Phycoérythrine, Phycoérythrocyanine	Eau riche en minéraux

1.2 Les Principales utilisations :

Les algues ont été utilisées depuis longtemps, au début dans l'alimentation des populations. Les pays asiatiques sont les principaux consommateurs d'algues marines, 16 millions de tonnes d'algues ont été ainsi consommées dont 15,8 millions issus de l'algoculture pour l'année 2010 (FAO, 2010). La France est le premier pays européen à établir une réglementation spécifique concernant l'utilisation des algues pour la consommation humaine en tant que substances alimentaires (Marfaing et Lerat, 2007 ; Burtin, 2003).

Grace aux propriétés des composés des algues marines, ces dernières sont utilisées dans plusieurs domaines tels que :

- ✓ **Agro-alimentaire** : Les alginates utilisés comme agents émulsifiants, épaississants, stabilisants, gélifiants et excipients (Cosandey, 2003).
- ✓ **Médicale** : En thalassothérapie, les bains d'algue (algotérapie) sont utilisés pour traiter les rhumatismes ou certaines affections de l'appareil locomoteur. Les algues sont aussi utilisées comme vermifuge, anesthésique et pommade pour le traitement de la toux, des blessures, la goutte et le goitre (Dhargalkar et Pereira., 2005).

✓ **Pharmaceutique** : Les algues et leurs extraits ont un intérêt important dans l'industrie pharmaceutique, pour le développement de nouveaux médicaments contre le cancer, l'inflammation et les infections microbiennes (**Elena et al., 2001 ; Kimet al., 1997 ; Okai et al., 1997 ; Premilaet al., 1996**). Les fucus sont riches en iode, ils sont additionnés dans les médicaments pour se soigner contre le goitre et la maladie de Basedow. L'alginate extrait des laminaires enrobe les médicaments afin de les protéger du suc stomacal, même il est employé dans la confection des pilules. *Sargassum bacciferum*, possède des vertus diurétiques et fébrifuges et combat les maladies rénales, elles se vendent sous forme de cachets de poudres d'algue (**Naegelé A et Naegelé E, 1967**).

✓ **Agricole** : Une autre utilisation intéressante des algues pratiquées de long temps et très répandue dans l'agriculture est l'utilisation des goémons comme engrais (**Naegelé A et Naegelé E, 1967**). La biodisponibilité de quantités adéquates de potassium, d'azote, d'hormones végétales et de micronutriments, la teneur élevée en matière organique, notamment en fibre, ainsi que la forme soluble dans l'eau des éléments minéraux et oligoéléments dans les algues font d'elles un excellent engrais (**Venugopal, 2009**).

1.3. Les composants chimiques des algues :

1.3.1. Les éléments minéraux :

Les algues puisent dans la mer une richesse très importante d'éléments minéraux très variés. La teneur en minéraux varie entre 8 et 40 % de la masse sèche (**Mac Artain et al., 2007**). Cette fraction minérale offre d'abord une grande diversité de macroéléments comme le sodium, le calcium, le magnésium, le potassium, le chlore, le soufre et le phosphore, mais également d'oligo-éléments tels que l'iode, le fer, le zinc, le cuivre, le sélénium et le molybdène, ainsi que d'autres oligoéléments comme le fluor, le manganèse, le bore, le nickel et le cobalt (**Mac Artain et al., 2007 ; Marfaing, 2004**).

Selon **Marfaing (2004)**, les algues rouges et les algues brunes sont plus riches en matières minérales totales que les végétaux terrestres. Où un apport quotidien en algues (~ 25 g) peut satisfaire les besoins minéraux d'un adulte (**Gebhardt et Thomas, 2002**).

1.3.2. Les lipides

La teneur en lipides chez les algues est très faible et varie de 1-5% (**Person 2010**). Les phospholipides et les glycolipides sont les principales classes de lipides et les algues accumulent des acides gras polyinsaturés, lorsqu'il y a chute de la température environnementale (**Holdt et Kraan, 2011**).

Les algues brunes ont une distribution en acides gras comparable à celle des algues rouges. Chez certaines algues brunes, les lipides algaux sont des sources de stérols particulières (Fucostérol) (**Hamid et al., 2015 ; Sánchez-Machado et al., 2004**).

1.3.3. Les protéines

La teneur en protéines des algues marines est variable du phylum à l'autre, généralement, la valorisation des algues est étroitement liée à leur composition minérale (fer, calcium, magnésium) ainsi qu'aux propriétés fonctionnelles des polysaccharides qu'elles contiennent. La fraction protéique la plus élevée est enregistrée chez les algues vertes et rouges (10-47% de matière sèche), alors qu'elle est généralement petite chez les algues brunes ; elle varie de 5-24% de la matière sèche (**Matanjun et al., 2009 ; Fleurence, 1999**).

Parmi les protéines actives qui peuvent être extraites des macroalgues, la lectine, qui, en se liant aux carbohydrates, participe à de nombreux processus biologiques tels que les communications intracellulaires. Elle possède également des activités antivirales, antibactériennes ou anti-inflammatoires (**Chojnacka et al., 2012**). Les biliprotéines ou phycobiliprotéines extraites des algues rouges sont utilisées comme des marqueurs fluorescents. D'après (**Tierney et al., 2010**), Il y'a trois types de phycobiliprotéines : la phycocyanine, l'allophycocyanine et la phycoérythrine. Les phycobiliprotéines ont montré des propriétés anti-inflammatoires et antivirales et surtout des propriétés antioxydantes qui sont bénéfiques pour la prévention et le traitement des maladies neurodégénératives, le cancer et les ulcères gastriques (**Holdt et Kraan, 2011**).

1.3.4. Les vitamines :

Les algues sont très riches en vitamines protectrices comme les vitamines A, B, C et E avec de grandes variations saisonnières. Les algues rouges sont riches en vitamine A, par contre, les algues vertes sont riches en vitamines C. La vitamine E est bien présente dans les algues brunes. L'intérêt principal réside dans la vitamine B12 dont les teneurs sont assez importantes

dans les algues contrairement aux plantes terrestres qui en sont totalement dépourvues (**Rajapakse et Kim, 2011**).

1.3.5. Les caroténoïdes :

Les caroténoïdes algaux sont de puissants antioxydants, ils représentent en moyenne 0,1 % du poids sec de l'algue, mais certaines espèces, dans certaines conditions environnementales, en produisent beaucoup plus. Les algues brunes sont particulièrement riches en caroténoïdes et notamment en fucoxanthine, β -carotène et violaxanthine. Les principaux caroténoïdes des algues rouges sont le β -carotène, l' α -carotène et leurs dérivés dihydroxylés, zéaxanthine et lutéine. Pour les algues vertes, les principaux caroténoïdes sont le β -carotène, l' α -carotène et leurs dérivés dihydroxylés, siphoxanthine, violaxanthine, nexanthine et lutéine (**Takaichi, 2011**).

1.3.6. Les polysaccharides :

Les polysaccharides forment un groupe hétérogène de polymères de compositions multiples et variées et de longueurs différentes. Ils sont construits à partir d'un ou plusieurs types de molécules monosaccharidiques liées entre elles par des liaisons glycosidiques. Ils sont caractérisés par un degré de polymérisation bien déterminé et un type de liaison entre les monomères (**Ignat, 2012**). Ils sont devenus aujourd'hui une source importante de composés naturels bioactifs responsables de plusieurs activités biologiques. Ils montrent des activités anti-tumorales, anticoagulantes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antivirales y compris contre les virus de l'hépatite et l'infection VIH (**Aguilar-Briseño et al., 2015**). Les algues sont riches en polysaccharides particulièrement les phycocolloïdes qui présentent 18 à 45% chez les algues brunes, ce groupe comprend les alginates et les carraghénanes (**Jiao et al., 2011**).

En règle générale, l'activité biologique des polysaccharides est liée à leur composition différente et surtout à la sulfatation de leurs molécules. Les polysaccharides sont les alginates, les agars, les carraghénanes, les ulvanes et les fucoïdiens qui sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique et également dans d'autres branches de l'industrie (**Amorim et al., 2012**).

1.3.7. Les fibres :

Les algues contiennent des teneurs en fibres totales semblables ou légèrement élevées par rapport aux aliments terrestres (**MacArtain et al., 2007**), ces fibres représentent une diversité importante représentée essentiellement par l'agar agar, les carraghénanes, les xylanes, l'alginate, le fucane, le laminarane, et l'ulvane (**Chouikhi, 2013**). Les algues contiennent 35 % de fibres, efficaces contre la paresse intestinale. La consommation d'algues peut favoriser des effets physiologiques bénéfiques, apportent de l'énergie, favorise le mouvement du matériel à travers le système digestif, augmente le volume des selles, soulage la constipation et les selles irrégulières et dissolvent l'excès de graisses grâce à l'élément spécifique de l'algue qui est l'algine, un composé glucidique à caractère mucilagineux. Cette substance exerce une attraction sur les toxines du corps, dont les métaux lourds et contribue à un bon transit intestinal. Les fibres alimentaires contribuent ainsi à faire baisser le taux de cholestérol dans le sang et permettent de réduire les besoins en insuline (**Mišurcová et al., 2010 ; Mouradi et al., 2008 ; MacArtain et al., 2007**).

1.4 Les métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont synthétisés au cours du développement normal de la plante et en réponse à l'attaque des pathogènes, des insectes et des herbivores. Ils appartiennent à des groupes chimiques extrêmement diverses (**Vasconsuelo et Boland, 2007 ; Zhao et al., 2005 ; Bruneton, 1999**).

1.4.1 Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux (**Lugasi et al., 2003 ; Bravo, 1998 ;**) essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement. Les composés phénoliques, ne sont pas libres, ils se trouvent généralement sous forme d'esters, liés aux acides organiques, ou de glycosides, liés aux sucres (**Crozier et al., 2006 ; Vermerris et Nicholson, 2006**).

Ils possèdent une activité antioxydante (assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique) (**Hennebelle et al., 2004**) et une activité antimicrobienne (Le mode d'action des polyphénols sur les microorganismes peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques) (**Mohamed et al., 2009 ; Karou et al., 2005 ; Cowan, 1999**).

1.4.2 Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Bouakaz, 2006**). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Havasteen, 2002**). Les flavonoïdes possèdent des activités anti-tumorales, anticarcinogènes, anti-inflammatoires et antioxydantes (**Bahorun, 1997**).

1.4.3 Les tannins :

Les tannins (ou tanins) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible qu'est le cuir (**Bruneton, 1999**). Les tannins sont généralement divisés en fonction de leurs structures en trois groupes chimiques distincts, les hydrolysables, les condensés et le moins connu les phlorotannins (**Koivikko, 2008**).

1.4.4 Les isoprénoides (Terpénoides) :

Ils constituent un groupe de molécules très différentes tant d'un point de vue structurel que fonctionnel. Avec près de 15.000 structures moléculaires connues, ils constituent probablement la classe la plus vaste et la plus diversifiée de composés organiques végétaux (**Hopkins, 2003**).

1.4.5 Les alcaloïdes :

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe. Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Les alcaloïdes sont caractérisés par une solubilité faible dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool et peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs (réactifs de Mayer, de Dragendorff, de Wasicky, de Bouchardat). Ils exercent en générale de puissantes actions pharmacologiques (**Badiaga, 2011**).

2. Les activités biologiques :

2.1 Les activités antioxydantes :

Les composés phénoliques ont été reconnus comme de puissants antioxydants, prévenant les dommages oxydatifs des acides nucléiques, des protéines et d'autres biomolécules. Leur mécanisme d'action est principalement le piégeage des radicaux libres et l'activation du système antioxydant endogène. Ce potentiel antioxydant des composés phénoliques est fortement liée à sa structure (Kumar et Goel, 2019 ; Gager, 2019). Le groupe hydroxyle (-OH) est donneurs d'hydrogènes et d'électrons, de sorte que son nombre et sa position influencent directement la capacité antioxydant des composés phénoliques. La présence de substituants sur le cycle aromatique affecte la stabilisation de la molécule et, par conséquent, l'activité de piégeage des radicaux (Kumar et Goel, 2019 ; Vuolo *et al.*, 2019).

De nombreuses études ont démontré les propriétés antioxydantes des extraits d'algues riches en composés phénoliques. Les algues vertes et rouges contiennent des concentrations plus faibles en composés phénoliques que les algues brunes. De nombreuses études ont démontré les effets antioxydants des phlorotannins dans diverses lignées cellulaires (Jimenez-Lopez *et al.*, 2020).

2.2. L'activité antimicrobienne :

Ces dernières années, il y a eu un grand intérêt pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens, due à une augmentation alarmante du taux des infections avec les microorganismes résistant aux antibiotiques. Une des approches courantes pour la recherche des substances biologiquement actives est le criblage systématique des micro-organismes ou des plantes, qui sont des sources de beaucoup d'agents thérapeutiques utiles. En particulier, l'activité antimicrobienne d'huiles essentielles et des extraits de plantes ont formé la base de beaucoup d'applications, y compris, pharmaceutiques, médicales et agro-alimentaires (Abedini, 2013).

3. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées :

Les germes utilisés sont des souches de référence ATCC, et constituent d'excellents modèles pour la recherche de l'effet antimicrobien des substances naturelles ou de synthèse.

- ***Klebsiella pneumonia*** : C'est un bacille à Gram négatif de la famille des *Enterobacteriaceae*, immobile, encapsulé, catalase positive, oxydase négative, anaérobie facultatif, fréquemment lié aux infections nosocomiales. Ces bactéries peuvent provoquer

différentes infections, telles que des pneumonies, des infections respiratoires, urinaires et des infections sanguines. (Breed et al.,1957).

➤ *Pseudomonas aeruginosa* : C'est est un bacille à Gram négatifde la famille des *Pseudomonadaceae*, il apparait isolé ou en diplobacille, oxydase et catalase positive, fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales, en particulier chez les patients immunodéprimés ou souffrant de brûlures. Elle est réputée pour sa résistance aux antibiotiques et sa capacité à former des biofilms. (Breed et al.,1957).

➤ *Bacillus cereus* : Bacille à Gram positifde la famille des *Bacillaceae* qui forme des endospores, catalase positive, aérobie ou anaérobie facultatif. Cette bactérie est souvent associée à des intoxications alimentaires provoquées par la production de toxines dans les aliments contaminés. Cette bactérie peut également être responsable, d'infections oculaires et systémiques chez les personnes immunodéprimées (Breed et al., 1957).

➤ *Escherichia coli* : Bacille ou colibacille à Gram négatifde la famille des *Enterobacteriaceae*, oxydase négative, catalase positive, aéro-anaérobie facultatif, naturellement présente dans l'intestin des humains et des animaux.Certaines souches peuvent provoquer des infections gastro-intestinales, urinaires et d'autres infections opportunistes. *E. coli* est un organisme modèle en microbiologie et en génétique. (Breedetal., 1957).

➤ *Staphylococcus aureus* : Ce sont des coques à gram positifde la famille des *Staphylococcaceae*, se regroupe en amas ou en grappe, immobile, catalase positive, anaérobie facultative.*Staphylococcus aureus* est associé à diverses infections chez l'homme et les animaux, notamment les infections nosocomiales, les infections cutanées, la pneumonie, l'endocardite(Paul De Vos et al., 1925).

➤ *Enterococcus faecalis* : Est un Cocci à gram positif de la famille des *Enterococcaceae*, immobile, se présentent seules, en paires ou en courtes chaînes, catalase négative, oxydase négative, anaérobie facultatif. Les entérocoques sont importants dans la septicémie, l'ostéomyélite et l'endocardite chez les volailles et les canards, et ils peuvent causer des infections sporadiques chez d'autres espèces animales. Dont l'*Enterococcus faecalis* représente l'espèce d'entérocoque la plus prédominante colonisant le tractus digestif humain (Paul De Vos et al., 1925).

➤ *Proteus mirabilis* : Est un bacille à Gram négatifde la famille des *Enterobacteriaceae*, mobile, se présentent en paires ou en longues chaînes, oxydase négative, catalase positive, aéro-anaérobie facultatif. Responsables des infections urinaires, des infections localisées (cutanées, abcès du cerveau...), et des infections des voies respiratoires (Breedetal., 1957).

- ***Salmonella typhi*** : Est un bacille à gram négatif de la famille des *Enterobacteriaceae*, généralement mobile, oxydase négative, aéro-anaérobie facultatif. Les bactéries du genre *Salmonella* sont pathogènes pour l'homme et/ou d'autres animaux, responsables des toxi-infections alimentaires, des infections urinaires, osseuse, articulaire, pulmonaire (**Breed et al., 1957**).
- ***Acinetobacter baumannii*** : Le genre *Acinetobacter* appartient à la famille des Moraxellaceae. Bacilles à Gram négatif, immobiles, non sporulés, parfois capsulés, souvent associés en paire ou en courtes chaînes, aérobie strict, oxydase-, catalase +. Les *Acinetobacter* sont principalement responsables d'infections nosocomiales (environ 10% des infections nosocomiales), septicémies, méningites, suppurations diverses, infections urinaires, pneumopathie... (**Delmas, 2008**).
- ***Candida albicans*** : Levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie, se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastopore), formant ainsi des colonies blanches crémeuses, et morphologiquement cette levure peut mesurer de 3 à 15 µm de taille. Les levures du genre *Candida* sont la cause de pathologies graves, l'infection par *Candida albicans* est la plus commune et représente plus de 60% des levures isolées chez l'homme. Elle est responsable d'infections qui, par leur fréquence et leur gravité, se situent au premier rang des infections fongiques (**Lagane, 2007**).

Chapitre II



Matériels

et

Méthodes

Chapitre II. Matériel et méthodes

1. Le matériel biologique

Une récolte générale a été effectuée pour choisir deux espèces d'algues, la sélection a été faite selon leur disponibilité, la facilité d'accès et la propreté du milieu.

Suite à la récolte, l'identification des deux espèces d'algues cibles : *Ulva lactuca* et *Jania rubens* a été effectuée par Dr Sakhraoui spécialiste en Botanique à l'université 20 août 1955-Skikda, département des Sciences de la nature et de la vie.

1.1. La récolte et zones d'échantillonnage

1.1.1. La technique d'échantillonnage

Les échantillons ont été récoltés durant le mois de décembre 2023. La récolte a été effectuée sur la surface des roches de la station 1 pour l'algue verte, et à une profondeur entre 1 et 2 mètres au niveau des roches de la station 2 lors de basse mer pour l'algue rouge (Fig.01), d'une manière autonome et manuelle à l'aide d'un grattoir. Les algues récupérées sont conservées dans des flacons en plastiques, remplies déjà d'eau de mer préalablement, puis transportés au laboratoire pour le Tri, Identification et le traitement.



Figure 01 : Echantillonnage des deux types d'algues

1.1.2. Les zones d'échantillonnage :

a) Station 1 : La plage Paradis

La Description de la station : Sa longueur est de 300m et sa largeur moyenne est de 7 m, cette plage est grande étendue, son sable peu fin, composé d'agrégats de roches diverses qui la délimitent, ses eaux sont généralement d'un bleu clair.



Figure 02 : Photographie de la plage paradis, CG : $36^{\circ}53.7250$ N, $006^{\circ}52.9415$ E.

b) Station 2 : La petite plage

Description de la station : Cette plage s'étend sur une longueur de 150 m et une largeur qui n'accède pas 5m, son sédiment est représenté par du sable fin avec la présence de quelques galets éparpillés, pas d'habitation à proximité.

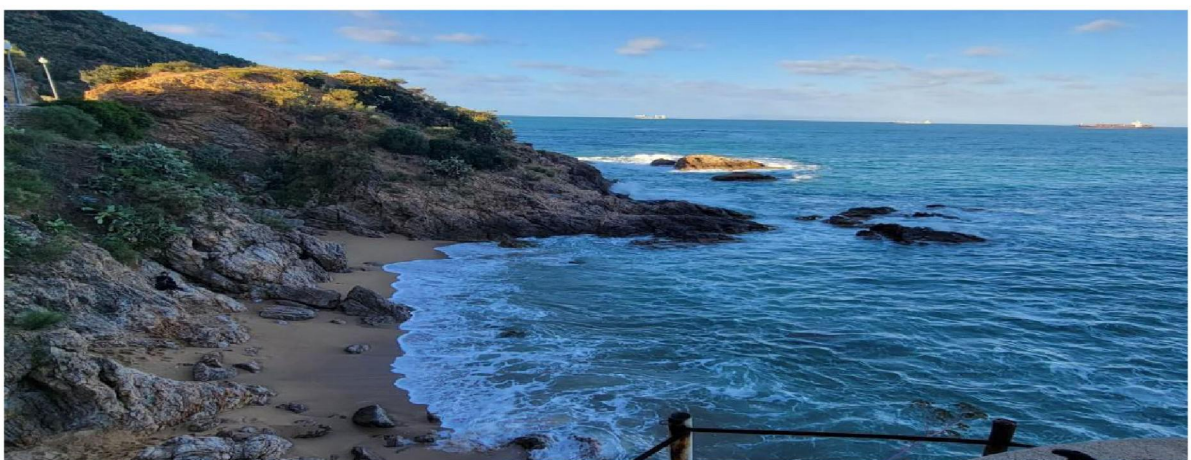


Figure 03 : Photographie de la petite plage, CG : $36^{\circ}54.5174$ N, $006^{\circ}52.9886$ E

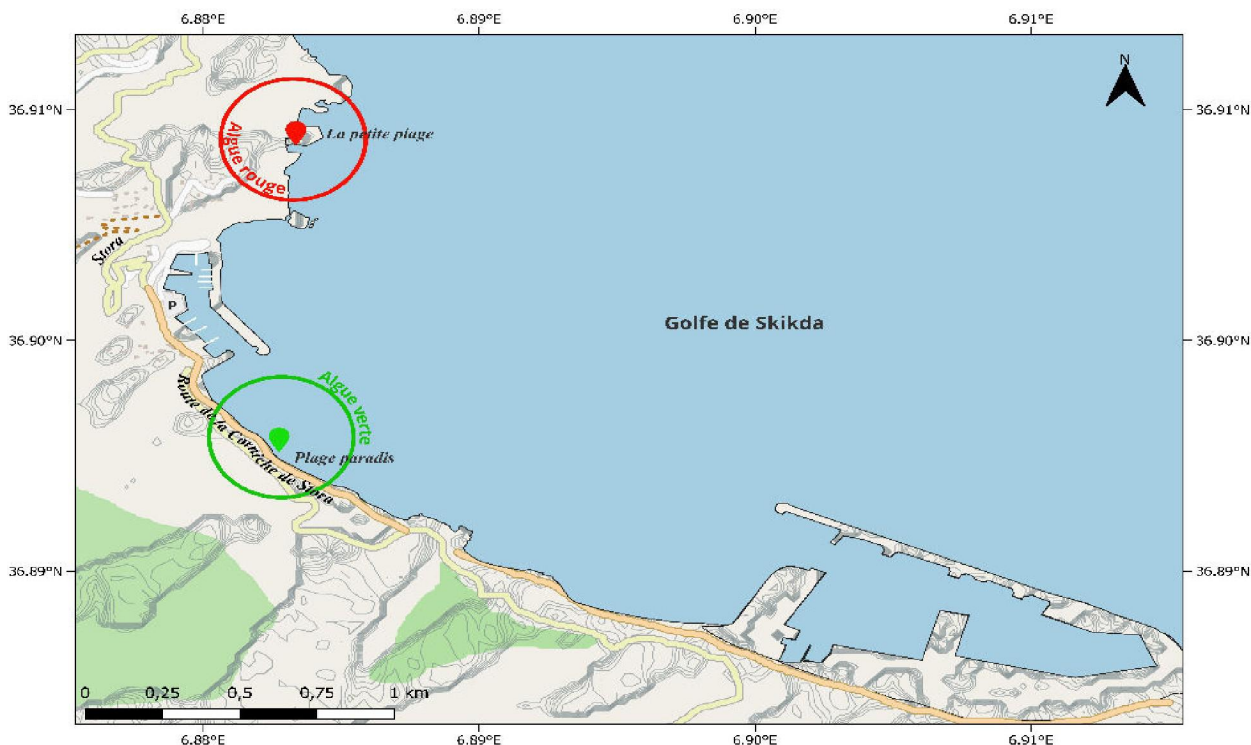


Figure 04 : Situation géographique des stations de prélèvement (Qgis Desktop 3.32.2/2023-09-15)

Tableau 02 : Classification des deux types d'algues (Cabioc'h et al., 1992)

Systématique	Algue rouge	Algue verte
Embranchement	<i>Rhodobionta / Rhodophyta</i>	<i>Chlorophyta</i>
Sous embranchement	<i>Eurhodophytina</i>	/
Classe	<i>Florideophyceae</i>	<i>Ulvophyceae</i>
Sous classe	<i>Coralinophycidae</i>	/
Ordre	<i>Corallinales</i>	<i>Ulvales</i>
Famille	<i>Corallinaceae</i>	<i>Ulvaceae</i>
Genre	<i>Jania</i>	<i>Ulva</i>
Espèce	<i>Rubens</i>	<i>Lactuca</i>

Une fois arrivé au laboratoire, un tri est effectué pour éliminer les débris, les petits coquillages et les autres espèces d'algues. Les échantillons sont par la suite rincés avec l'eau du robinet puis avec de l'eau distillée pour éliminer le sable, l'excès de sel et les épiphytes.

1.2. La Préparation des extraits éthanoliques :

1.2.1. Le Séchage :

Après nettoyage et triage, les feuilles sont étalées sur un morceau de toile propre et mises à l'air libre et à l'abri de la lumière. Le séchage se fait à température ambiante dans un endroit sec et bien aéré durant environ 15 jours, pour préserver le maximum d'intégrité des molécules actifs.



Figure 05 : Séchage des deux types d'algues.

1.2.2. Le Broyage :

Les feuilles sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique et le broyat obtenu a été conservé dans des sachets en papier à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.



Figure 06 : Broyage des deux types d'algues

1.2.3. L'extraction par macération dans l'éthanol (extraction solide/liquide) :

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner le broyat (poudre) dans l'éthanol pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes) (Hamia *et al.*, 2014), dont le protocole de la macération est le suivant (Fig. 07) :

1. Peser 100 grammes du broyat dans un bécher ;
2. Ajouter 250 ml d'éthanol ;
3. Agiter de temps en temps ;
4. Laisser macérer pendant 24 h ;
5. Filtrer sur un papier filtre Wathman (N° :1, $\varnothing = 15\text{cm}$) ;
6. Récupérer le filtrat dans un flacon.

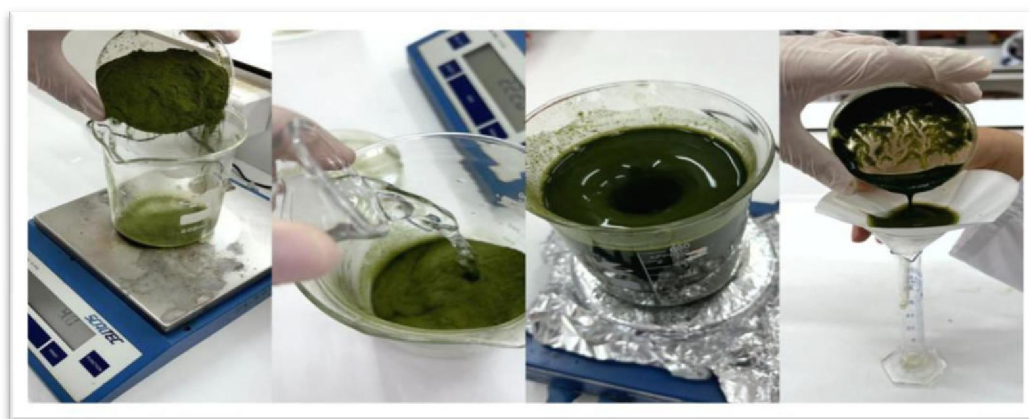


Figure 07 : Macération de la poudre d'algue

1.2.4. L'évaporation :

Le filtrat a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif de type *DLab RE 100-Pro*, qui permet d'éliminer le solvant sous vide. Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (Hamia *et al.*, 2014), comme suit (Fig. 08) :

1. Placer le filtrat de la macération dans le ballon d'évaporation ;
2. Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition du solvant au réglage de 70°C de température, et une rotation de 200tr/min ;
3. Retirer le ballon du rotavap et attendre qu'il se refroidisse ;
4. Récupérer l'extrait ;
5. Mettre l'extrait dans une boîte de pétri ;

6. Placer la boîte de pétri à l'étuve à 40°C pendant 2 à 3 jours, pour séchage et élimination de l'excès d'éthanol ;
7. Détermination du rendement des deux extraits, qui correspond au pourcentage des métabolites secondaires dissouts dans un solvant organique et/ou aqueux utilisé pour l'extraction (Abe *et al.*, 2010).



Figure 08 : Dispositif de l'évaporateur rotatif

Pour la détermination du rendement d'extraction est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue après évaporation du solvant (M1) et la masse de la poudre végétale utilisée (M0), selon l'équation de **Fallehet al. (2008)**.

$$R \% = \frac{M1}{M0} \times 100$$

Dont :

R % : Rendement des extraits exprimés en %

M1 : La masse de l'extrait sec.

M0 : La masse de la poudre végétale

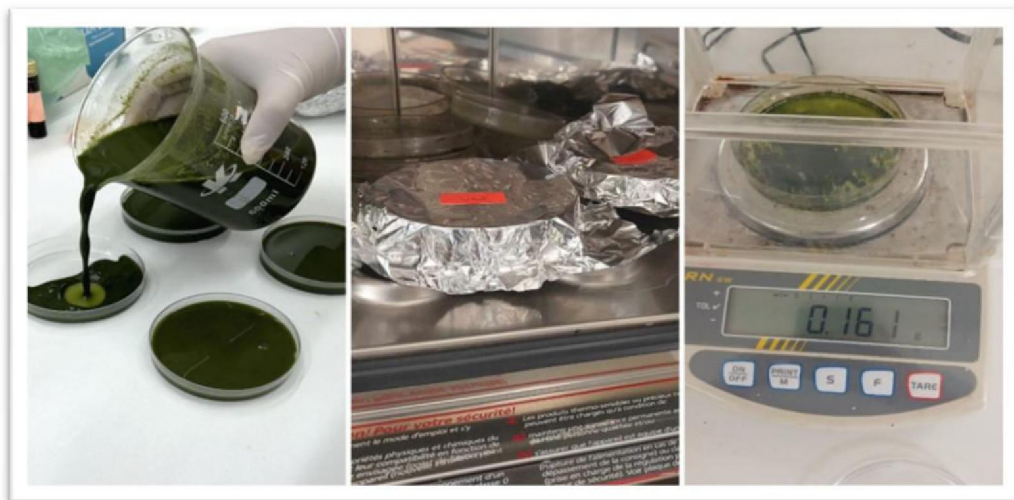


Figure 09 : Les étapes de détermination du rendement des deux extraits.

1.3. Le Dosage des composés phénoliques

1.3.1. Le Dosage des polyphénols totaux

La méthode la plus fréquemment utilisée pour quantifier les polyphénols totaux consiste l'utilisation du réactif Folin-Ciocalteu, qui se compose d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Au moment de l'oxydation des phénols, ce réactif se réduit en une combinaison d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène, produisant ainsi une teinte qui absorbe la lumière à une longueur d'onde comprise entre 725 et 750 nm. Cette coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

Dans le cas des extraits des deux algues, 2 ml de chaque extrait sont mélangés à 0,2 ml de réactif Folin-Ciocalteu et 1,4 ml de Na_2CO_3 à 7,5% (m/v). Le mélange est incubé à température ambiante, à l'obscurité, pendant 2 heures, puis la lecture des absorbances est réalisée à 760 nm, en utilisant un spectrophotomètre SP-UV 2005 (Spectrum instruments). Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique / g d'extrait sec, en utilisant une courbe d'étalonnage de l'acide gallique, qui est obtenue avec 6 concentrations variant de 0 à 1 mg/ml (**Waterhouse, 1999**).



Figure 10 : Dosage des polyphénols totaux

1.3.2 Le Dosage des flavonoïdes

La méthode de quantification des flavonoïdes utilisée repose sur la technique décrite par (Chang *et al.* 2002), mais avec quelques modifications mineures. Cette méthode implique la formation d'un complexe très stable entre les atomes d'oxygène situés sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes et le chlorure d'aluminium, qui donne une couleur jaune et absorbe dans le visible à 415 nm.

Pour mesurer les flavonoïdes, on mélange 0,2 ml d'extrait avec 1,72 ml d'éthanol à 96%, 0,4 ml de chlorure d'aluminium à 10%, et 1 ml d'acétate de sodium 1M. Ensuite, on agite le mélange et on le laisse incuber à une température ambiante pendant 30 minutes à l'obscurité avant de mesurer l'absorbance à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre SP-UV 2005 (Spectrum instruments). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec en se basant sur une courbe d'étalonnage de la quercétine.



Figure 11 : Dosage des flavanols

1.3.3. Le Dosage des tanins

La méthode de la réaction vanilline a été utilisée pour doser les tanins. Pour ce faire, un milieu réactionnel de 6 ml a été préparé en mélangeant 1 ml d'échantillon, 2,5 ml de réactif A (solution de vanilline à 1% p/v dans le méthanol) et 2,5 ml de réactif B (solution d'HCl ou d'H₂SO₄ à 9N dans l'éthanol), selon les travaux de (**Price *et al.* 1978**). La réaction a eu lieu à une température de 30°C pendant 15 minutes, puis l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 500 nm (A₅₀₀). Les résultats obtenus ont été exprimés en mg équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait sec, en utilisant une courbe d'étalonnage d'acide tannique.



Figure 12 : Dosage des tannins

1.4. L'évaluation de l'activité antioxydante :

1.4.1. La Méthode du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) :

Le test de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un outil couramment utilisé pour évaluer l'activité antioxydante en milieu organique, (Blois ,1958). Il repose sur la réduction d'une solution alcoolique du radical DPPH en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), ce qui entraîne la formation d'une forme non radicalaire, DPPH-H. Les radicaux DPPH présents dans la solution confèrent à celle-ci une couleur pourpre foncé et engendrent une forte absorption à 517 nm. Toutefois, l'introduction d'un agent antioxydant entraîne une décoloration progressive de la solution au cours de la réaction, ce qui modifie la colorimétrie de la solution (Xie et Schaich, 2014).

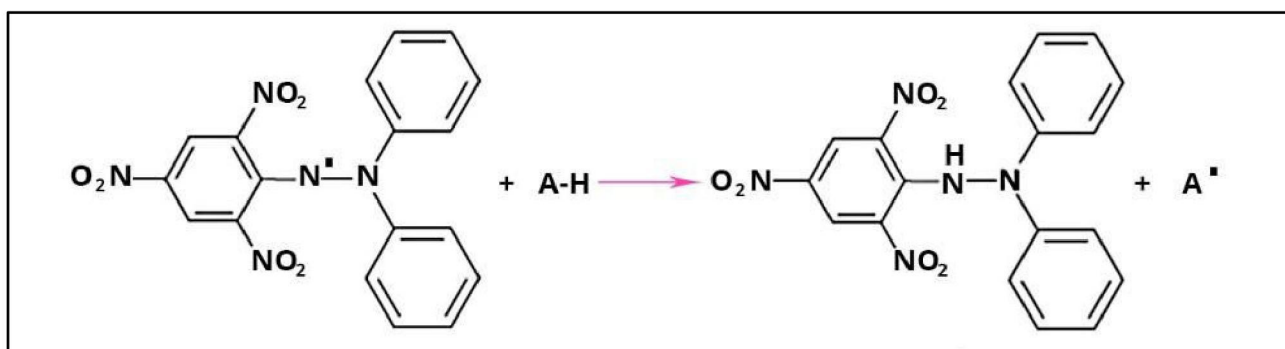


Figure 13 : Mécanisme d'action du DPPH (Xie et Schaich, 2014).

Le test de l'activité antioxydante par DPPH comporte plusieurs étapes. Tout d'abord, il faut préparer une solution de DPPH en dissolvant 3,94 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol pour obtenir une concentration de 0,01 mM. Ensuite, des échantillons à tester sont préparés en les dissolvant dans de l'éthanol. Les échantillons sont ensuite ajoutés à la solution de DPPH dans une série de tubes à essai contenant des concentrations croissantes d'échantillon à tester (de 0 à 1 mg/ml). Les tubes sont incubés pendant 30 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière. Après l'incubation, l'absorbance de chaque tube est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Le pourcentage d'inhibition de DPPH est ensuite calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition DPPH} = \frac{[\text{Absorbance du contrôle} - \text{Absorbance de l'échantillon}]}{\text{Absorbance du contrôle}} \times 100$$

Une courbe dose-réponse est générée afin d'illustrer graphiquement la relation entre le pourcentage d'inhibition de DPPH et la concentration de l'échantillon.

Cette courbe permet de déterminer la concentration inhibitrice 50% (IC50), qui correspond à la concentration d'échantillon requise pour réduire de moitié la quantité initiale de DPPH.

Le calcul de l'IC50 est réalisé en interpolant les données obtenues à partir de la courbe dose-réponse.

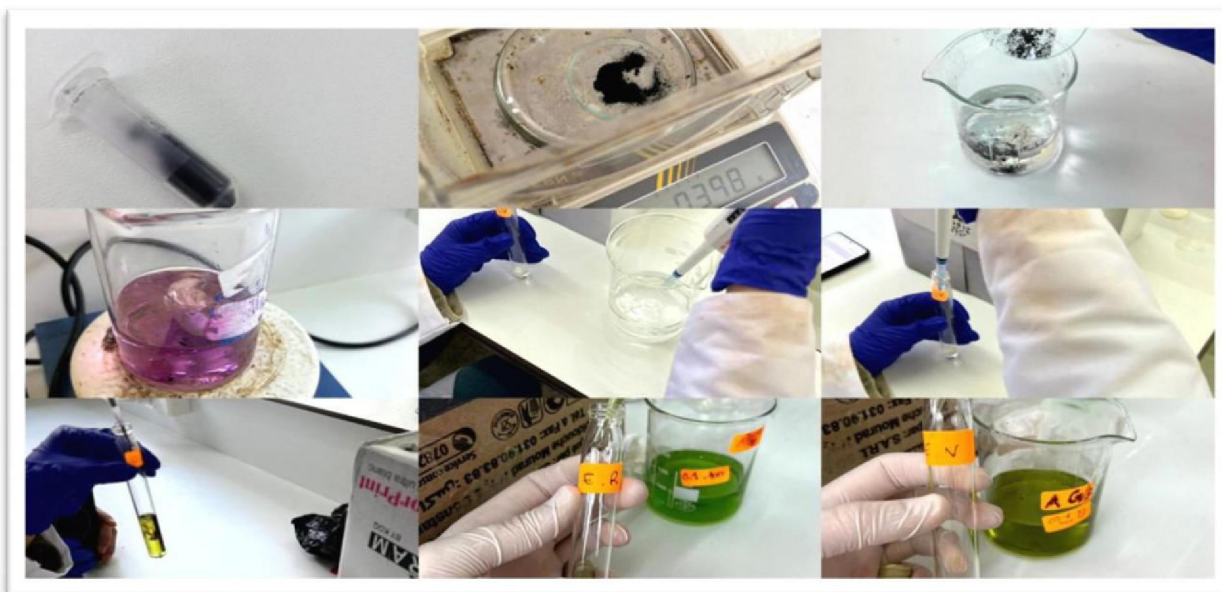


Figure 14: Le test de l'activité antioxydante par DPPH

1.4.2. La Méthode de l'acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) :

Cette méthode repose sur l'aptitude de certains composés à capturer le radical-cation ABTS⁺ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline) -6-sulfonique), qui a une teinte bleu-vert à l'état initial. Ce radical cationique est produit par l'oxydation de l'ABTS, qui n'a pas de couleur initialement.

La réaction se déroule en deux étapes : dans un premier temps, le radical ABTS⁺ est généré en retirant un électron d'un atome d'azote de l'ABTS grâce à la présence de persulfate de potassium K₂S₂O₈ dans le milieu réactionnel. Dans un deuxième temps, en présence d'un antioxydant donneur de H⁺, le radical d'azote correspondant capte un H⁺, formant ainsi l'ABTSH⁺ et entraînant la décoloration de la solution (**Re et al., 1999**).

Pour préparer la solution mère d'ABTS, on mélange 5 ml d'eau et 19,2 mg d'ABTS avec 3,3 mg de K₂S₂O₈, puis on laisse le mélange réactionnel incuber à l'obscurité pendant 16 heures à température ambiante. La solution fille de travail d'ABTS + est obtenue en diluant la solution mère d'ABTS avec de l'eau jusqu'à obtenir une absorbance d'environ (0,7) à 734 nm (**Re et al., 1999**).

Dans chaque tube des prises de 1ml des différentes concentrations (0-1mg/ml) des extraits de la plante encapsulé et non encapsulé et 160 µl de la solution d'ABTS. Ont été incubés à l'obscurité pendant 30 minutes. La lecture des absorbances est effectuée à 734nm.

L'activité antioxydante a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition ABTS} = \frac{[\text{Absorbance du contrôle} - \text{Absorbance de l'échantillon}]}{\text{Absorbance du contrôle}} \times 100$$

Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS ont été tracés en fonction des concentrations d'extrait pour déterminer l'index IC₅₀.



Figure 15: Le test de l'activité antioxydante par ABTS

1.4.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC) :

a. Le Principe du test :

Le principe de cette méthode est basé sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproéne (NC)-cuivre (Cu^{2+}) $\text{Nc}^{2-}\text{-Cu}^{2+}$. En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-néocuproène est réduit et cette réaction est quantifiée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 450 nm. Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe $\text{Cu}^{2+}\text{-Nc}$, produisant ainsi un complexe chromogène de $\text{Cu}^{2+}\text{-Nc}$ qui absorbe à 450 nm (Bensouici, 2015).

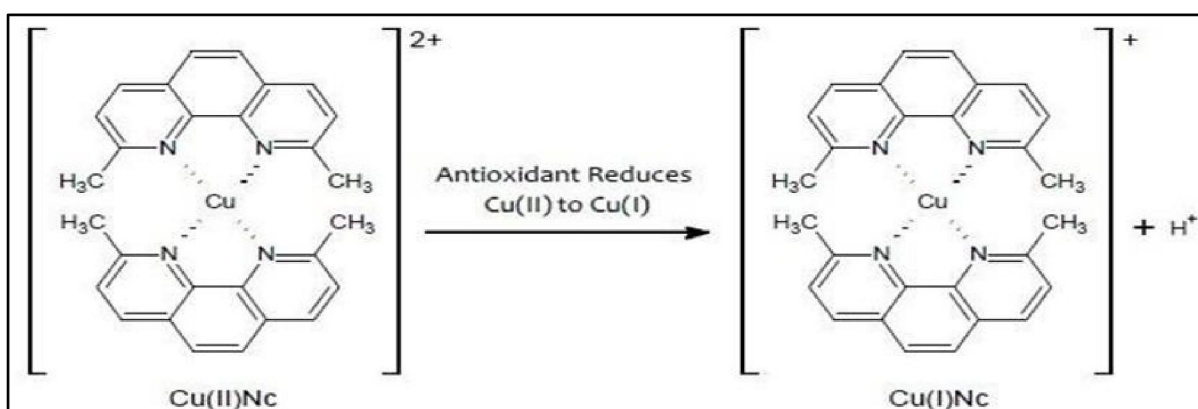


Figure 16 : Réduction du complexe chromogène de $\text{Cu}^{+2}\text{-Nc}$.

b. Le protocole du test :

L'activité antioxydante par réduction cuprique (CUPRAC) des différents échantillons a été évaluée selon la méthode de CUPRAC (Apaket *al.*, 2004).

Brièvement, le test comprend le mélange de 3 ml d'extrait à différentes concentrations avec 5 ml du tampon aqueux d'acétate d'ammonium (ACNH₄) à (pH 7.00, 1M), 4 ml de solution alcoolique néocuproïne (7 mM), et 4 ml de solution de chlorure de cuivre (II) (CuCl₂,10mM) dans des tubes à essai. Après 30 minutes à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, l'absorbance a été enregistrée à 435 nm.



Figure 17: Test de l'activité antioxydante par réduction cuprique

1.5. L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique des deux algues marines étudiées :

Afin de déterminer le potentiel bioactif des extraits éthanoliques des deux algues marines, Dix souches de références sont testées dont trois bactéries Gram positives, six à Gram négatives et une levure. Ces souches (Tableau 3) sont fournies par le Laboratoire de Microbiologie et contrôle de qualité du centre de recherche en sciences pharmaceutiques Constantine.

Tableau 3 : Tableau représentatif des différentes souches microbiennes testées

Type de souches :	Souches	Référence
Bactéries à Gram⁺	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
Bactéries à Gram⁻	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	ATCC 700603
	<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 14028
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 05024
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 19606
Levure	<i>Candida albicans</i>	ATCC 08024

ATCC : Américain Type Culture Collection

1.5.1. Le repiquage des souches microbiennes :

Chaque souche bactérienne est ensemencée au préalable sur une gélose nutritive par la méthode des stries, puis incubées pendant 24 h à 37°C. (Bonnet *et al.*, 2013).



Figure 18 :Repiquage des souches microbiennes

1.5.2. La vérification des souches :

a. L'observation macroscopique :

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies isolées permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.

D'après (**Joffin et Leyral, 2001**), les éléments d'identifications macroscopiques sont :

- ✓ La forme des colonies : punctiforme, irrégulières, etc.
- ✓ La taille des colonies par les mesures du diamètre : petite ; moyenne ou grande taille.
- ✓ La pigmentation : couleur de la colonie.
- ✓ L'élévation : bossue, convexe, plane.
- ✓ L'opacité : opaque, translucides, transparente
- ✓ Aspect : lisse, rugueuse, sèche.

b. L'observation microscopique :

La coloration de Gram est une double coloration qui nous permet de connaître la forme, l'arrangement, la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées. Cette coloration est réalisée systématiquement sur les différentes colonies purifiées pour préciser le caractère Gram+ ou Gram-. Avec cette coloration double, les bactéries Gram positives apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram négatives sont colorées en rose ou en rouge (**DELARRAS, 2008**). Dont la technique est la suivante :

1. Déposer une goutte d'eau physiologique sur la lame.
2. Frotter la pointe dans la goutte d'eau physiologique. Laisser sécher à l'air.
3. Passer 3 fois la lame dans la flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.
4. Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane sur le frottis fixé.
5. Laisser agir 1 minute. Jeter l'excès de colorant dans un bécher, rincer très brièvement
6. Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis.
7. Laisser agir 1 minute. Jeter la solution de Lugol dans un bécher et rincer brièvement à l'eau.
8. Déposer quelques gouttes d'alcool sur le frottis et laisser agir 30 secondes, rincer à l'eau.
9. Déposer la solution de fushine pendant 1 minute, rincer à l'eau.
10. Laisser sécher à l'air.
11. Observer au microscope (avec une goutte d'huile à immersion, au grossissement 1000x).

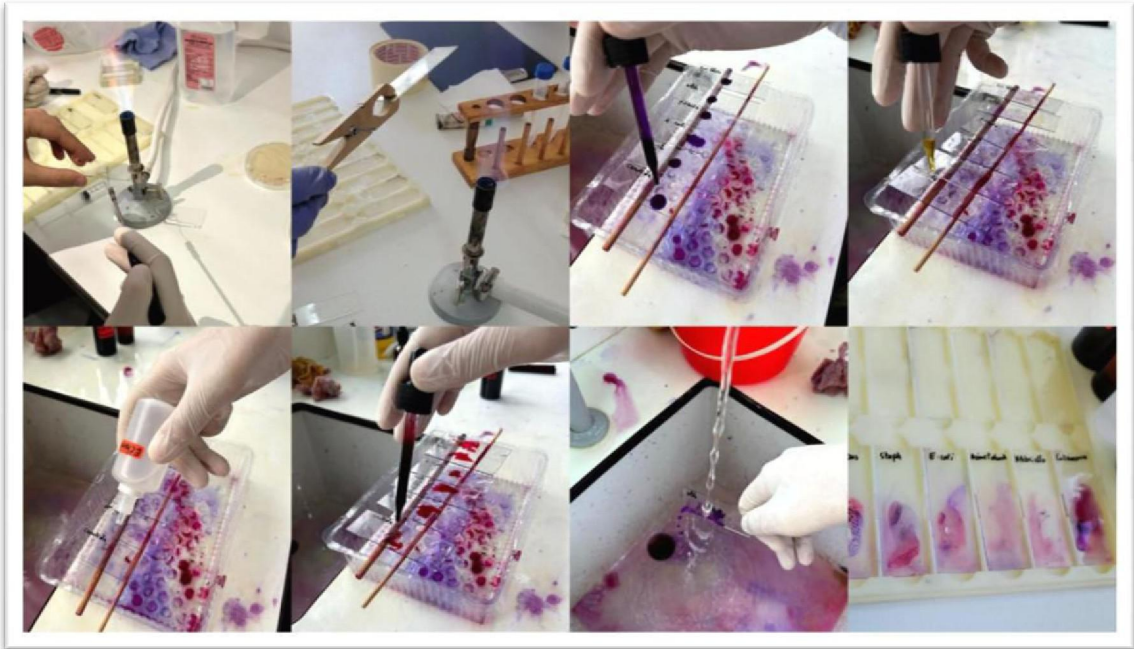


Figure 19 : Etapes de la coloration de Gram

1.5.3. La préparation des inoculums :

Quelques colonies ont été prélevées d'une culture jeune de 18 à 24 heures tout dépend des souches, ces dernières ont été diluées dans 5 ml d'eau physiologique stérile et laissées incubées pendant une heure et demi. Les suspensions ont été ajustées par spectrophotométrie correspondant à une densité optique (DO) entre 0,08 à 0,13 à 625 nm pour les bactéries, et une DO entre 0,08 à 0,1 à 449 nm pour les champignons, ce qui correspond à une suspension contenant environ 10^8 UFC/ ml (0,5 Mc Farland) (Nayeemulla *et al.*, 2006).



Figure 20: Préparation des inoculums

1.5.4. La réalisation des tests d'activité antimicrobiennes :

Les activités antimicrobiennes des différents extraits éthanoliques ont été déterminées par la technique de diffusion sur gélose Mueller-Hinton pour les bactéries et sur gélose Sabouraud pour les champignons. Le mode opératoire utilisé est celui décrit par (Younes *et al.*, 2009). Le milieu gélosé a été ensemencé par écouvillonnage par des inoculums microbiens standardisés. Des disques stériles de papier filtre ayant un diamètre de 6mm ont été déposés aseptiquement sur la gélose ensemencée et ont été immédiatement imprégnés par un volume d'extraits d'algues de 10 μ l ayant d'une concentration allant de 100mg/ml jusqu'à 0,1 mg/ml. L'éthanol a été utilisé comme témoin négatif.



Figure 21: Test de l'activité antimicrobienne

1.5.5 La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

a. Le principe :

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration inhibant toute croissance microbienne après 18 à 24 heures d'incubation (Caquet, 2004). La CMI des extraits éthanoliques des souches cibles est déterminée sur milieu liquide (Bouillon Mueller Hinton et Sabouraud), par la méthode des dilutions à l'aide des microplaques de 96 puits (Tunçel et Nergiz, 1993).

b. Le mode opératoire :

Mettre 100 μ l du milieu MH dans les puits 1 à 9, ainsi que dans les puits 11 et 12, dont le puit 11 représente le témoin de culture des bactéries et le puit 12 représente le témoin de stérilité du milieu

de culture MH. Ensuite, déposer 100 µl de composé végétal dans les puits A1 à E1 puis, effectuer les dilutions successives (100 µl de A1 dans A2 et ainsi de suite). De plus, mettre 100 µl de la suspension dans les puits 1 à 9 et le puits 10 pour obtenir un volume final de 200 µl.

Enfin, les microplaques sont mises à l'étuve pendant 24 heures à 37 °C. La lecture sera faite après 24 heures visuellement et par la méthode colorimétrique en utilisant le réactif Chlorure de TriphénylTétrazolium (TTC) qui est utilisé comme indicateur du potentiel redox mitochondrial de la mort cellulaire, qui sera pulvérisé sur la microplaque et incubée de nouveau pendant trente minutes (Abedini, 2014).

En parallèle les diverses dilutions ont été ensemencées sur des boîtes gélosées (Mueller-Hinton), sur des stries de 5 cm à l'aide d'une anse de platine, les boîtes seront incubées à 37 °C sur une période de 18 à 24 heures (Okou *et al.*, 2019).

Le même protocole a été utilisé pour *Candida albicans* en utilisant le bouillon Sabouraud.

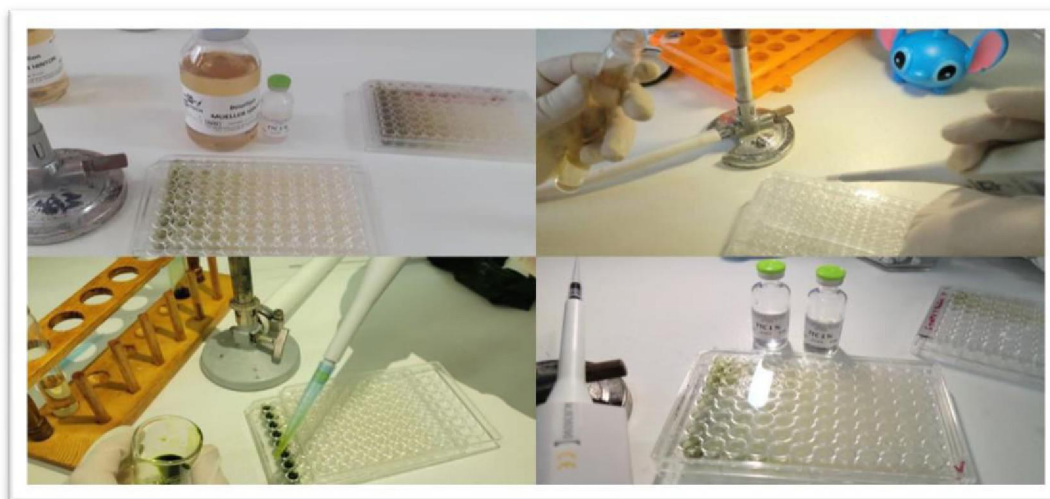


Figure 22: Etapes de détermination de la CMI

1.5.6 La détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) :

a. Le Principe : La CMB est définie comme étant la plus petite concentration aboutissant à une destruction notable des bactéries (0,01% de survivant) (Meyer *et al.*, 1994).

b. Le mode opératoire : La concentration minimale bactéricide (CMB) est déterminée en transférant 100 µl de chaque puits ne montrant aucune croissance qu'on ensemence avec des stries radiales sur le milieu de culture gélosé (Mueller-Hinton) puis incubé à 37 C pendant 24 h ou 48 h. La CMB correspond à la plus

faible dilution sans aucune croissance bactérienne qui est déterminée visuellement par l'absence de colonies. (Bengudouar 2023)

Le même protocole a été utilisé pour *Candida albicans* en utilisant la gélose Sabouraud, pour déterminer la concentration minimale fongicide.

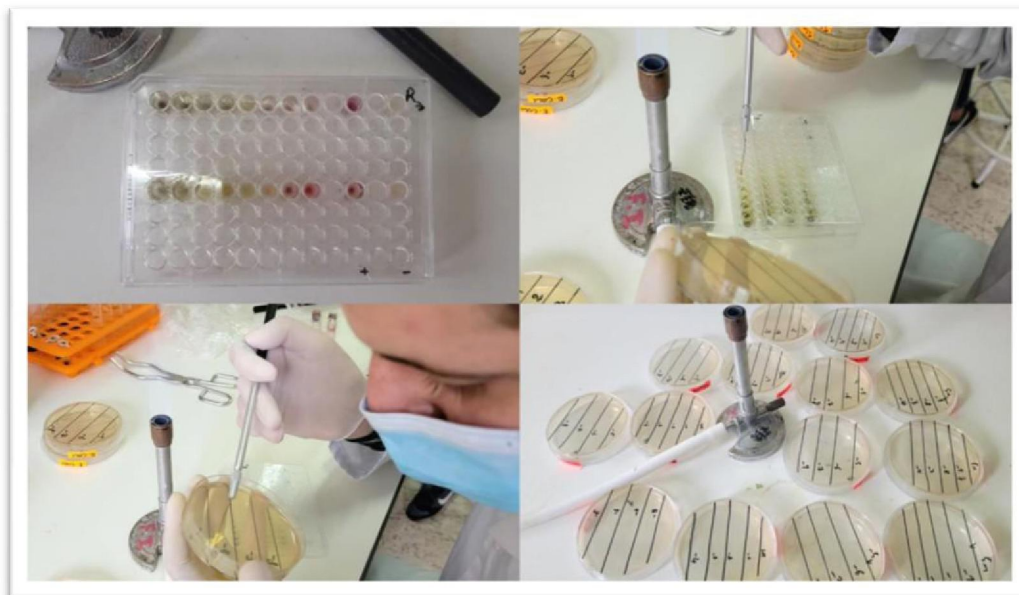


Figure 23:Etapes de détermination de la CMB

1.5.7. La détermination du rapport CMB/CMI :

Ce rapport est utilisé pour distinguer les agents bactéricides ($CMB/CMI \leq 2$) des agents bactériostatiques (CMB très éloignée de la CMI).

Il permet de définir également la tolérance d'une souche bactérienne à un agent bactéricide ($CMB/CMI > 32$) (CA-SFM, 2016).

1.6. La partie statistique :

Pour pouvoir effectuer une étude statistique de toutes les données de la présente étude des réplicas de 3 essais ont été effectués. Les résultats sont exprimés en moyenne et écart type. Les données sont analysées en utilisant le test de Tukey qui permet d'établir des comparaisons multiples en une seule étape pour évaluer si les moyennes sont significativement différentes l'une de l'autre grâce au logiciel MINITAB 19.

Chapitre III



Résultats

et

Discussions

Chapitre III : Résultats et discussions

1. Détermination du rendement :

Le rendement d'extraction à partir de 100 g de la poudre végétale des deux algues marines est illustré dans le tableau 04.

Tableau 04 : Rendement d'extraction éthanolique des deux algues

Algues	<i>Jania rubens</i>	<i>Ulva lactuca</i>
Rendement en (g)	0,4	2,5
Rendement en (%)	0,4	2,5

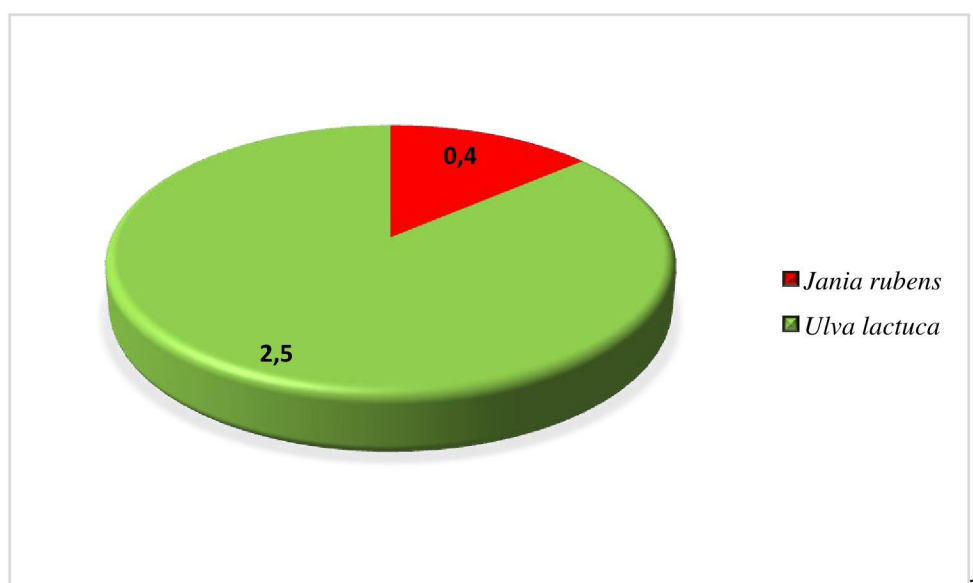


Figure 24 : Rendement d'extraction en (%) des deux algues

Les résultats de la (Fig. 24) montrent que l'extraction éthanolique des composés phénoliques après 24 h de macération a donné un taux d'extraction de 2,5 % pour *Ulva lactuca* et 0,4 % pour *Jania rubens*.

Nos résultats restent presque similaires avec l'étude de **Nouadri et al. (2014)** sur les côtes de Jijel avec un taux d'extraction éthanolique d'*Ulvalactucade* 7,5 %, et 2,62 % pour *Jania rubens*. Tandis que notre résultat pour l'*Ulva lactuca* reste son rendement inférieur à l'étude de **Sabeena Farvin et al. (2013)** au Danemark, dont leur rendement d'extraction été de 9,4%. Cette différence peut dépendre par la synthèse de métabolites secondaires par les algues marines qui est influencée par la variation saisonnière et la répartition géographique (**Younes et al., 2009 ;**

Maréchal *et al.*, 2004) et aussi du temps de macération qui affecte le taux d'extraction (Hayouni *et al.*, 2007 ; Eloff, 1998)

En générale, les résultats enregistrés montrent que l'extrait éthanolique de l'algue verte *Ulva lactuca* a donné un meilleur rendement que l'extrait éthanolique de l'algue rouge *Jania rubens*.

2. Résultats des teneurs en composés phénoliques des deux algues

Les quantités de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins ont été déterminées en utilisant des courbes d'étalonnage de l'acide gallique, de la quercétine et de l'acide tannique, respectivement. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES) pour les polyphénols totaux, en milligrammes équivalents de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES) pour les flavonoïdes, et en milligrammes équivalents d'acide tannique par gramme d'extrait sec (mg EAT/g ES) pour les tanins.

2.1 Teneurs en polyphénols totaux

Les quantités de polyphénols correspondantes à chaque échantillon ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage (figure 25) en utilisant l'équation suivante : $y = 0,5563x - 0,0005$

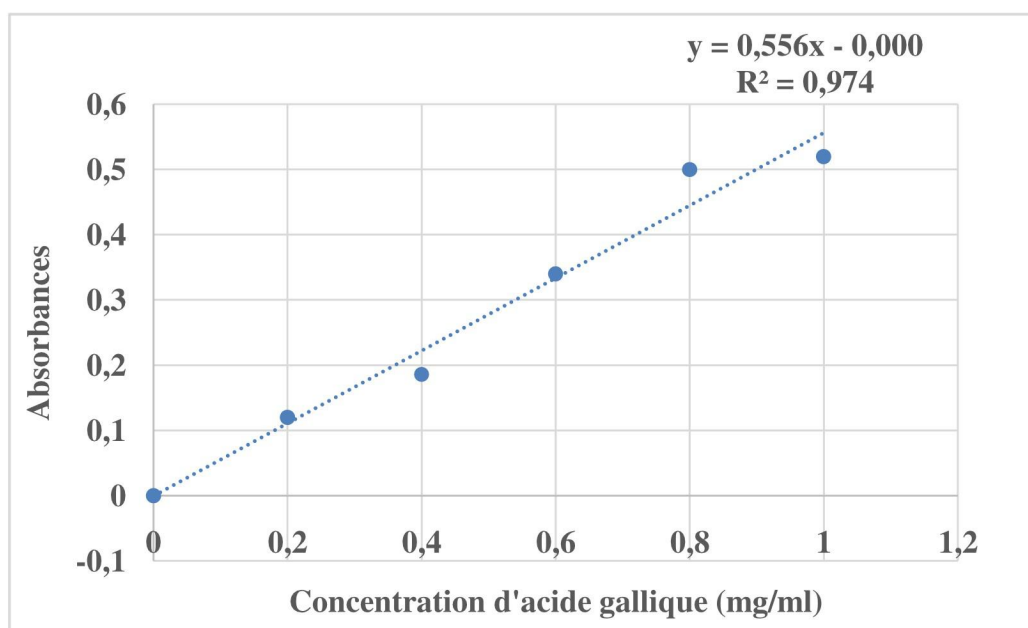


Figure 25 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux obtenus sont présentés dans le Tableau 05 :

Tableau 05 : Teneur en polyphénols totaux

Algue	<i>Jania rubens</i>	<i>Ulva lactuca</i>
Teneur en Polyphénols mg EAG/g ES	0,49±0,05	0,59±0,05

Le test de Tukey révèle des différences significatives dans les teneurs en polyphénols totaux entre les deux échantillons étudiés de l'extrait éthanolique des deux algues. Cette différence significative est indiquée par une valeur de p inférieure à 0,05.

Le dosage des polyphénols a été réalisé en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Malgré la sensibilité et la simplicité de cette méthode qui est largement utilisée, elle n'est pas spécifique des polyphénols. En effet, le réactif peut réagir avec des protéines, des sucres, l'acide ascorbique et des composés soufrés, ce qui peut influencer les résultats obtenus (**Singleton et Rossi, 1965**).

En ce qui concerne notre étude, l'analyse des composés phénoliques montre que l'extrait éthanolique obtenu à partir de l'algue verte *Ulva lactuca* possède une teneur élevée en phénols totaux de 0,59±0,05mg EAG/mg extrait sec, par rapport à celui de l'algue rouge *Jania rubens* avec une teneur en phénols totaux de 0,49±0,05mg EAG/mg extrait sec.

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction, réduisent les possibilités de comparaison entre les études (**Trabelsi et al., 2010**).

Nos résultats ne sont pas d'accord avec l'étude **d'Abdille et al., (2005)**, qui indique que les extraits algales méthanoliques sont les plus riches en composés phénoliques.

2.2 Teneur en flavonoïdes :

Les quantités de flavonoïdes correspondantes à chaque échantillon ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage (fig. 26) en utilisant l'équation suivante : $y = 1,4371x + 0,1114$.

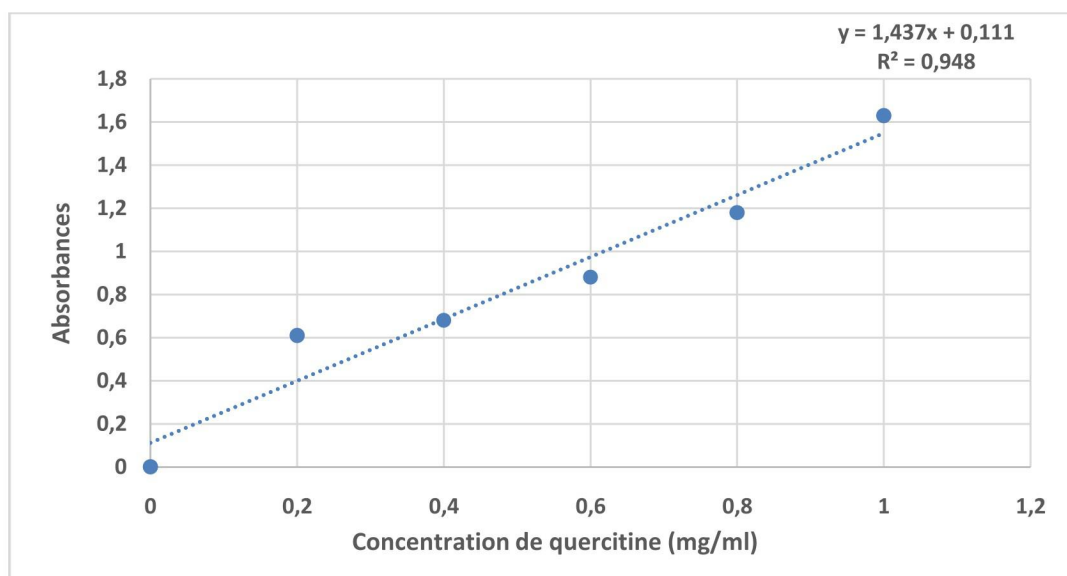


Figure 26: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Les teneurs en flavonoïdes obtenues sont montrées dans le tableau 06 :

Tableau06 : Teneurs en flavonoïdes (mgEQ/g ES)

Algue	<i>Jania rubens</i>	<i>Ulva lactuca</i>
Teneurs en flavonoïdes (mg EQ/g ES)	0,065±0,0005	0,071±0,001

L'analyse de Tukey a révélé une différence significative ($p < 0,05$) entre les deux algues avec une concentration faible de flavonoïdes, de $0,071 \pm 0,001$ mg EQ/gES pour *Ulva lactuca*, et de $0,065 \pm 0,0005$ mg EQ/gES pour *Jania rubens*.

Il existe peu de travaux sur le contenu en flavonoïdes dans les algues marines (Zheng *et al.*, 2001 ; Sava and Sirbu, 2010 ; Meenakshi and Gnanambigai, 2009), reste une étude récente sur la distribution des flavonoïdes chez 27 espèces d'algues marines (6 Chlorophyta, 11 Phaeophyta et 10 Rhodophyta) a montré qu'elles avaient une composition flavonoïde totalement différente des fruits et légumes (Yoshie-Stark *et al.*, 2003). D'autres études ont signalé que les macroalgues sont riches en cathéchines, de flavonols (Heo *et al.*, 2005). Contrairement aux plantes terrestres, les anthocyanes et les flavones n'ont pas été trouvés dans les algues (Stengel *et al.*, 2011).

2.3 Teneur en tanins :

La courbe d'étalonnage des tanins, établie en fonction des variations d'absorbance de l'acide tannique à différentes concentrations (Figure 27), revêt une importance capitale dans cette étude. L'équation obtenue, $y = 0,0414x + 0,0076$.

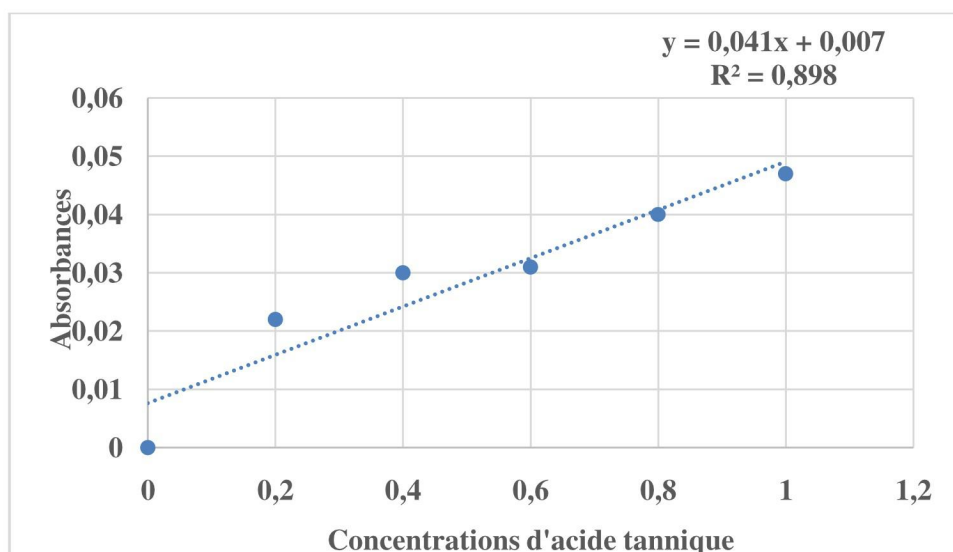


Figure 27: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique

Les teneurs en tanins obtenues sont montrées dans le tableau 07 :

Tableau 07 : Teneurs en tanins (mg EAT/g d'extrait sec).

Algue	<i>Jania rubens</i>	<i>Ulva lactuca</i>
Teneurs en tanins mg EAT/g ES	3,573±0,011	3,353±0,011

Le test de Tukey a révélé qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les deux algues marines étudiées malgré que les résultats restent proche entre ces deux algues avec des teneurs en tanins de $3,573 \pm 0,011$ mg EAT/g ES pour *Jania rubens* et de $3,353 \pm 0,011$ mg EAT/g ES pour *Ulva lactuca*.

Ce résultat doit être pris avec modération, en effet, la méthode de dosage utilisée peut influencer le résultat obtenu. Par ailleurs, il est rapporté que chez les algues marines, il existe une catégorie spécifique de polyphénols appelés phlorotannins, dont ces derniers ont une structure moins complexe que celle des tanins terrestres et sont représentés par des polymères de phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzene). Ils peuvent constituer jusqu'au 15% du poids sec des algues brunes.

3. Évaluation de l'activité antioxydante

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel (Neghraoui). L'étude de l'activité antioxydante des extraits des deux algues est testée selon deux méthodes : la première est le piégeage des radicaux libres par le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et le test ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acide), la deuxième est la réduction du complexe cuivre néocuproène (CUPRAC). Les résultats sont présentés par les valeurs de l'IC50, qui représentent la concentration nécessaire pour inhiber 50 % de l'activité antioxydante.

Les résultats du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH, ABTS et CUPRAC par l'extrait brut éthanolique des deux algues rouge *Jania rubens* et verte *Ulva lactuca* sont illustrés dans le Tableau 08, ainsi que leurs courbes sont illustrées dans l'annexe 1 comme suit : les figures 1 et 2 de pour le DPPH, les figures 3 et 4 pour l'ABTS et les figures 5 et 6 pour le test de CUPRAC respectivement.

Tableau 08 : Valeurs d'IC50 (mg/ml) de l'extrait éthanolique des deux algues.

Échantillon/IC50	DPPH	ABTS	CUPRAC
Extrait d'algue rouge : <i>Jania rubens</i>	0,8609±0,0008	0,2838±0,0041	150,39±0
Extrait d'algue verte : <i>Ulva lactuca</i>	0,8476±0,0008	0,3762 ±0,1913	190,38±0

Les valeurs de l'IC50 exprimée en mg/ml ont été déterminées à partir des droites de régression de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration pour chaque échantillon.

Le test de Tukey a révélé qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les deux algues marines étudiées pour le DPPH et aucune différences significatives pour l'ABTS.

D'après le Tableau 08, le DPPH présente une activité antioxydante avec un IC50 des pourcentages moyens pour l'*Ulva lactuca* qui varient entre 84,71% et 97,14%, dont ce dernier pourcentage d'inhibition est enregistré à la concentration de la solution mère de l'extrait (1 mg/ml). Et pour *Jania rubens* des pourcentages moyens d'inhibitions qui varient entre 86% et 96,28%, dont le pourcentage élevé est toujours enregistré à la concentration de la solution mère de l'extrait (1 mg/ml).

Comparativement à la littérature, les travaux de (Tefiani, 2015) a obtenu le plus grand pourcentage d'inhibition (7%) avec la concentration (1mg/ml).

L'activité antiradicalaire des extraits est également étudiée en utilisant le teste ABTS. Ce dernier réagit avec le persulfate de potassium pour donner le radical ABTS+. La génération du radical avant l'ajout des extraits est nécessaire afin d'éviter l'interférence des composés dans la formation du radical ce qui conduit à une surestimation de la capacité antioxydante (Katalinic *et al.*, 2006). L'ABTS présente une activité antioxydante avec un IC50 pour *Jania rubens* de valeur $0,2838 \pm 0,0041$ mg/ml et de $0,3762 \pm 0,1913$ mg/ml pour *Ulva lactuca*.

Concernant les résultats de la réduction du complexe cuivre neocuproéne (CUPRAC), dont son principe est basé sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe $Cu^{2+} - Nc$, produisant ainsi un complexe chromogène de $Cu^{+} - Nc$ qu'est absorbé à 450 nm.

Le test de Tukey a relevé une différence significative ($p < 0,05$) entre les deux algues. Le CUPRAC présente une activité antioxydante avec un IC50 pour *Jania rubens* de valeur $150,39 \pm 0$ mg/ml et de $190,38 \pm 0$ mg/ml pour *Ulva lactuca*.

4. L'activité antimicrobienne :

4.1. La vérification des souches :

4.1.1. L'observation macroscopique :



Figure 28 : Aspect macroscopique des bactéries à Gram positives



Figure 29 : Aspect macroscopique des bactéries à Gram négatives



Figure 30 : Aspect macroscopique de *Candida albicans*

4.1.2. L'observation microscopique

✓ La coloration de Gram

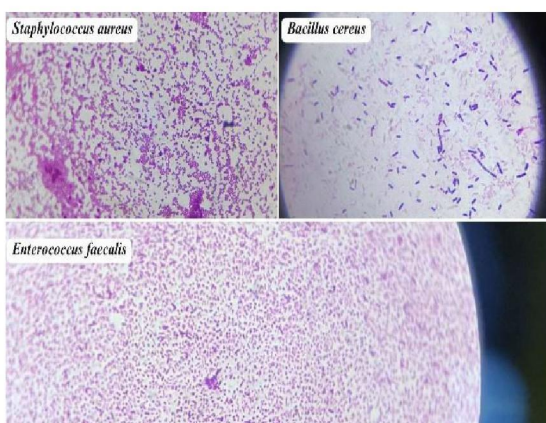


Figure 31 : Observation microscopique des bactéries à Gram positives (X100)

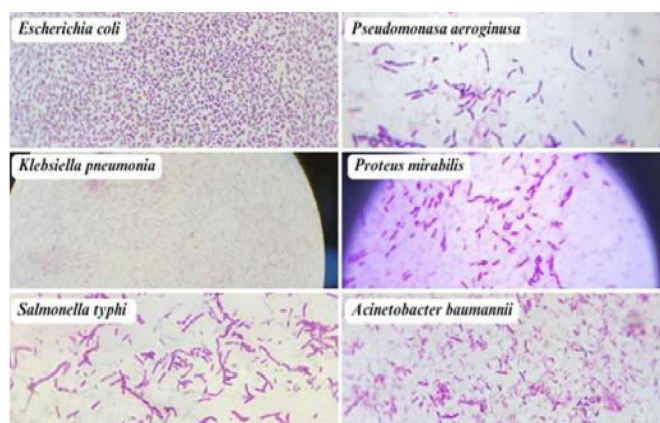


Figure 32 : Observation microscopique des bactéries à Gram négatives (X100)

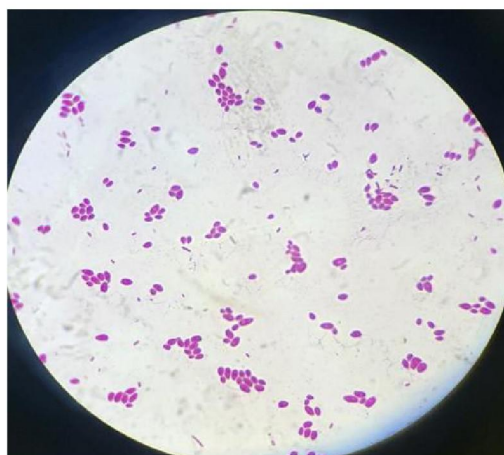


Figure 33 : Observation microscopique de *Candida albicans* (X100)

Les résultats des observations macroscopiques présentés dans les figures 28, 29 et 30 et microscopiques illustrés dans les figures 31, 32 et 33 montrent que toutes les souches ont un aspect similaire et unique cela veut dire que les espèces sont pures, nous confirmons donc leur

identification, la description des colonies et les détails de l'observation microscopique sont donnés dans les tableaux 1 et 2 de l'annexe 02.

4.2. L'activité antimicrobienne :

Les algues font l'objet de nombreuses études à travers le monde néanmoins, les données présentées dans cette modeste étude constituent les premiers résultats sur l'activité antimicrobienne de l'algue rouge *Jania rubens* de la côte Algérienne, tandis que pour *Ulva lactuca* il existe des travaux déjà réalisés.

Dans cette étude, l'extrait éthanolique de deux espèces d'algues marines (*Jania rubens* et *Ulva lactuca*) sont testés vis-à-vis trois bactéries Gram positives, six bactéries Gram négatives et une levure.

Les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité : Résistante : Diamètre <8 mm, Intermédiaire : 15 mm \geq Diamètre \geq 8 mm et Sensible : Diamètre >15 mm (Bansemir et al., 2006), cependant l'efficacité des extraits éthanoliques diffère significativement selon les souches testées.

Les diamètres des zones d'inhibition obtenues par les extraits de *Jania rubens* et *Ulva lactuca* sont donnés dans le tableau 03 de l'annexe 02. L'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques des deux espèces d'algues marines étudiées est résumée dans les deux figures (Fig. 34) et (Fig. 35).

4.2.1. L'effet de l'extrait de *Jania rubens* sur les souches testées :

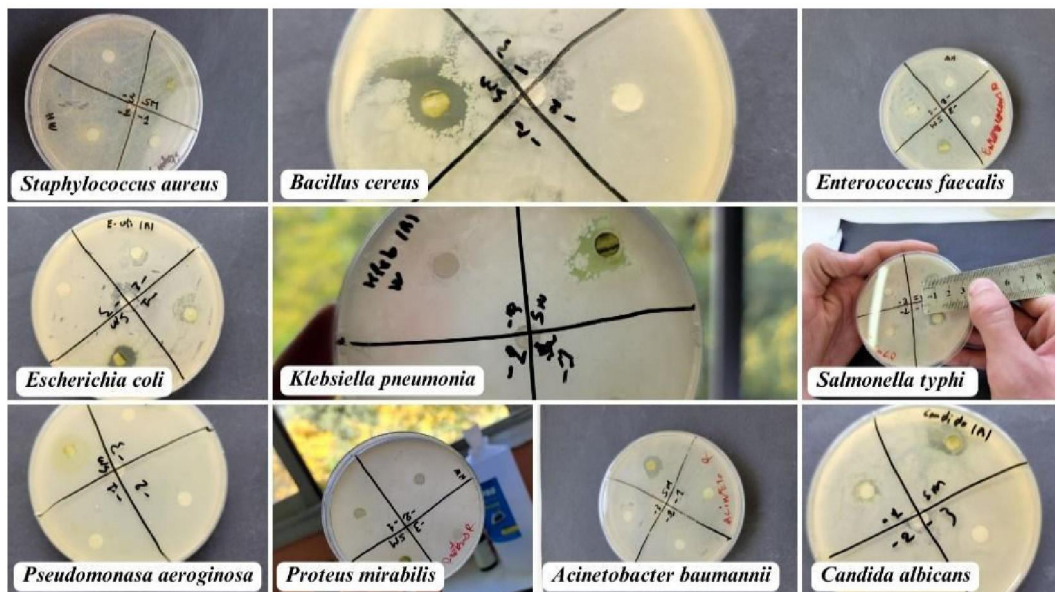


Figure 34 : Photographies des zones d'inhibition de l'extrait de *Jania rubens*

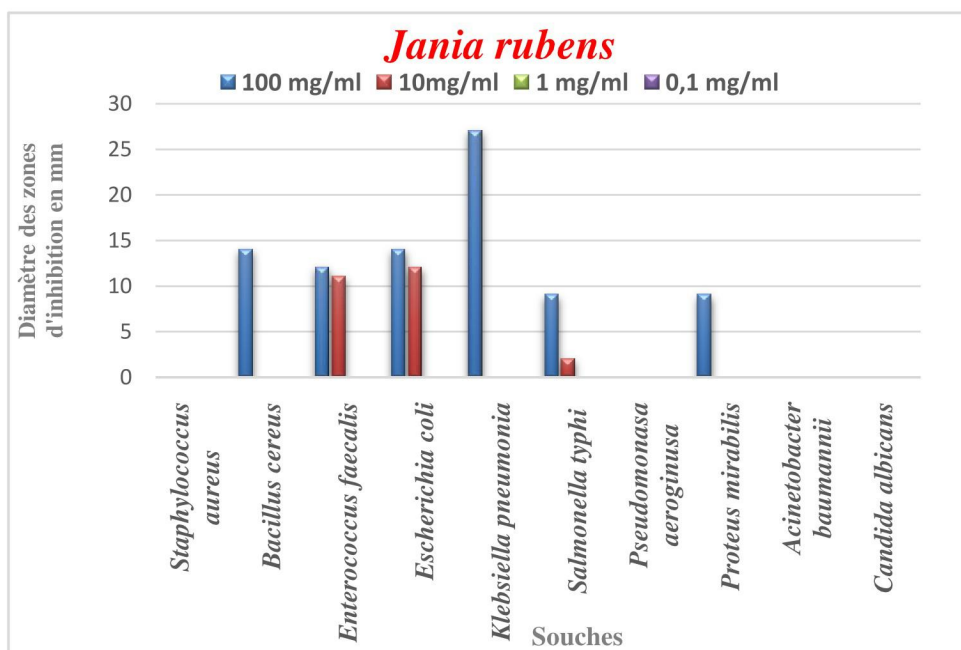


Figure 35 : Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait de *Jania rubens* testé sur dix souches

a. L'activité antibactérienne à l'égard des bactéries Gram positives :

D'après les résultats des deux figures (Fig. 34) et (Fig. 35), on remarque que l'extrait éthanolique de *Jania rubens*, à une concentration de 100 mg/ml a montré une activité antibactérienne moyenne à l'égard de *Bacillus cereus* avec une zone d'inhibition de 14 mm, suivie d'*Enterococcus faecalis* avec une zone d'inhibition de 12 mm, et il n'a montré aucune activité vis-à-vis *Staphylococcus aureus*. Ces résultats indiquent une sensibilité intermédiaire de *Bacillus cereus* et *Enterococcus faecalis* à l'extrait éthanolique de *Jania rubens* et une résistance de *Staphylococcus aureus* envers ce dernier.

L'extrait hexanique d'une algue rouge *Gracilaria*, étudié par Lima-Filho et al. (2002) a inhibé seulement la croissance de *Bacillus subtilis*.

Les études de Farid et al. (2012) sur les extraits de *Corallina officinalis* préparés dans le mélange éthanol/ dichlorométhane récoltée de la côte atlantique marocaine ont montré un effet inhibiteur faible contre *Bacillus cereus* moins de 10 mm et une résistance contre *Staphylococcus aureus*

b. L'activité antibactérienne à l'égard des bactéries Gram négatives :

D'après les résultats de la deux figures (Fig. 34) et (Fig. 35), on remarque que l'extrait éthanolique de *Jania rubens*, à une concentration de 100 mg/ml a montré un meilleur effet inhibiteur par rapport aux autres concentrations vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae* avec la plus large zone d'inhibition de 27 mm, suivie par *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 14 mm, et enfin *Salmonella typhi* et *Proteus mirabilis* avec une zone d'inhibition de 9 mm chacune, ces résultats

indiquent une grande sensibilité de *Klebsiella pneumonia*, et une sensibilité modérée des autres bactéries à l'extrait éthanolique de *Jania rubens*.

Pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* on remarque une absence d'activité antibactérienne, ce qui indique une résistance de ces deux bactéries à l'extrait éthanolique de *Jania rubens*.

Omar et al. (2012) ont étudié l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de l'algue rouge *Gracillaria multipartita*, ils ont trouvé une zone d'inhibition faible (12,5mm) et une zone plus large avec l'extrait éther de pétrole à l'égard d'*E. coli* (18mm).

Les études de **Kolanjinathan et al. (2009)**, sur les extraits éthanoliques de *Gracilaria edulis* (algue rouge) collectés de la côte de Mandapam à Kanyakumari ont montré que l'algue rouge *Gracilaria edulis* a enregistré un effet inhibiteur contre *E. coli* de l'ordre de 11,9 mm, *B. cereus* 4,2 mm, *P. aeruginosa* 11,2 mm et *S.aureus* 12,1 mm.

Les résultats des autres chercheurs ne sont pas en accord avec les nôtres car l'inhibition de croissance bactérienne dépend de plusieurs facteurs, la bactérie cible, la nature de l'extrait testé ainsi que sa concentration. En général, il est rapporté que l'activité antimicrobienne des algues peut être influencée par l'habitat, le stade de croissance et la saison de la collecte des algues **Farid et al., (2010)**, **Zheng et al., (2001)**.

En revanche, nos résultats montrent que l'extrait éthanolique de *Jania rubens* a pu inhiber la croissance de la majorité des souches bactériennes testées.

c. L'activité antifongique :

Aucune zone d'inhibition n'est observée vis-à-vis *Candida albicans*, ce qui indique une résistance de cette levure à l'extrait éthanolique de *Jania rubens*.

Une activité antifongique des algues a été rapportée par **Zheng et al. (2001)**. Ces auteurs ont rapporté que l'extrait éthanolique de l'algue *Gelidium amansii* a une très faible activité contre le champignon *Alternaria dianthi*.

4.2.2. L'effet de l'extrait d'*Ulva lactuca* sur les souches testées :

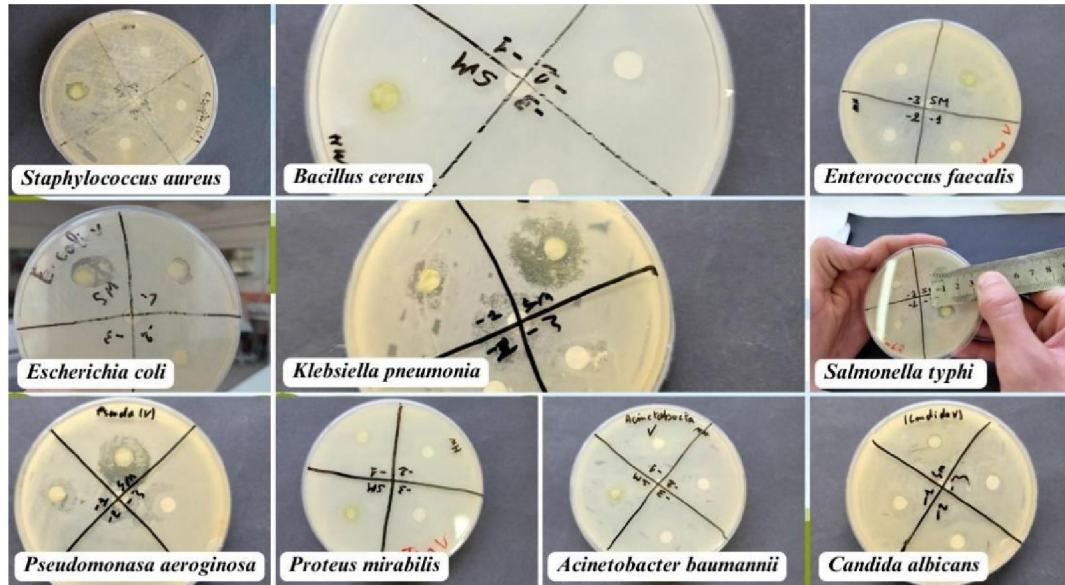


Figure 36 : Photographies des zones d'inhibition de l'extrait d'*Ulva lactuca*

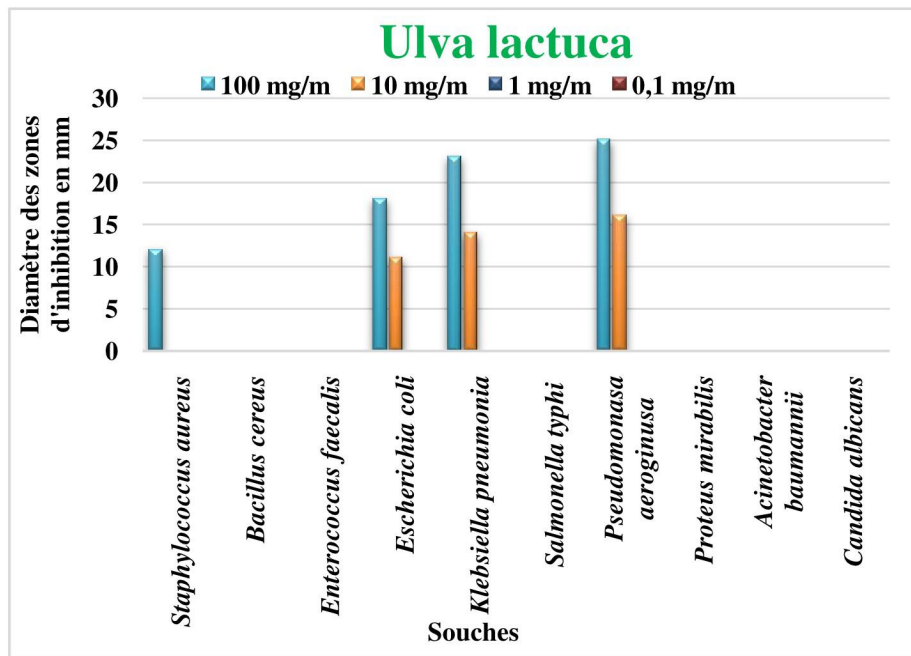


Figure 37 : Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait d'*Ulva lactuca* testé sur dix souches

a. L'activité antibactérienne à l'égard des bactéries Gram positives :

- *Staphylococcus aureus* :

Les résultats des deux figures (Fig.36) et (Fig.37) montrent que l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca*, à une concentration de 100 mg/ml a montré une activité antibactérienne moyenne à l'égard de *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de 12 mm, ce résultat indique une sensibilité modérée de cette bactérie à l'extrait éthanolique de cette algue.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Younes et al., (2009)** qui ont constaté une activité des extraits d'*Ulva intestinalis* sur *Staphylococcus aureus* avec des zones d'inhibition supérieures à 10mm.

Nos résultats sont également similaires approximativement avec les travaux de **Keramane et al., (2013)** qui ont conclués que les extraits éthanoliques et acétonique de cette algue ont donné un meilleur effet inhibiteur vis-à-vis *Staphylococcus aureus* qui a présenté la plus grande sensibilité avec des zones d'inhibitions de 15mm, 14mm respectivement.

Les extraits des algues vertes, *Ulva linza*, *Ulva intestinalis* et *Ulva lactuca*, ont présenté une zone d'inhibition contre *Staphylococcus aureus*. **Reichelt et Borowitzka (1983)** ont montré que les ulves ont des effets antimicrobiens sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, par contre **Kumar et Rengasamy (2000), Ktari (2000),** ainsi que **Caccamese et Azzolina (1979)** ont montré que l'activité antimicrobienne est absente dans les extraits d'algues des ulves.

- ***Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis***

Les résultats pour ces deux bactéries ont montré une absence d'activité totale, ce qui indique une résistance de ces bactéries à l'extrait éthanolique de d'*Ulva lactuca*.

b. L'activité antibactérienne à l'égard des bactéries Gram négatives :

- ***Pseudomonas aeruginosa* :**

D'après les résultats des deux figures (Fig.36) et Fig.37) on remarque que l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca*., à une concentration de 100 mg/ml a montré un meilleur effet inhibiteur par rapport aux autres concentrations vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* avec la plus large zone d'inhibition de 25 mm, ce qui indique une grande sensibilité de cette bactérie à l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca*. Nos résultats ont déjà été avérés par **Oranday et al., (2004)** avec la même espèce et le même solvant.

Et ils sont également similaires avec les travaux de **Keramane et al., (2013)** qui ont confirmé que l'effet de l'extrait éthanoliques d'*Ulva lactuca* récolté sur la côte de Bejaïa a montré une activité antibactérienne relativement élevée sur *Pseudomonas aeruginos* par rapport à l'extrait méthanoïque et celui acétonique qui ont présenté une faible activité avec une zone d'inhibition de 8mm.

- ***Klebsiella pneumonia*** :

D'après les résultats des deux figures (Fig.36) et Fig.37) on remarque que l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca*., à une concentration de 100 mg/ml a montré un meilleur effet inhibiteur par rapport aux autres concentrations vis-à-vis *Klebsiella pneumonia* avec une zone d'inhibition de 23 mm.

Ces résultats étaient confirmés par les travaux de **Farid et al., (2012)**, **Younes et al., (2009)** qui ont constaté que les extraits méthanoliques de l'algue *Ulva lactuca* présentent une forte activité vis-à-vis la bactérie *Klebsiella*.

Nos résultats sont similaires aux travaux de **Zitouni et al., (2016)** qui ont remarqué une zone d'inhibition tout autour des disques imbibés d'extrait sec et d'extrait méthanolique d'*Ulva lactuca* récolté sur le littoral de la ville d'Annaba et sur l'île de Sidi Fredj à l'ouest d'Alger.

- ***Escherichia coli***

Les résultats des deux figures (Fig.36) et (Fig.37) montrent que l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca*., à une concentration de 100 mg/ml a donné une activité antibactérienne vis-à-vis *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 18 mm, ce qui indique une grande sensibilité de ces bactéries à l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca*.

Zbakh et al., (2012) ont révélé que la souche *E. coli* est sensible vis-à-vis des extraits d'*Ulva intestinalis* avec un intervalle des zones d'inhibition se situant entre 10mm et 15mm, nos résultats sont meilleurs, cette différence peut être expliquée par le changement de l'espèce.

Seenivasan et al. (2012) ont remarqué que *Escherichia coli* est résistante vis-à-vis de différents extraits d'*Ulva intestinalis* ce qui est en contradiction avec nos résultats concernant. Ce résultat peut être expliqué par la richesse de notre espèce d'algue en composés bioactifs.

Notre résultat est en accord également avec celui obtenu par d'autres chercheurs (**Moujahid et al., 2004**) et (**Reichert J, Borowitzka M.A., 1984**) mettant en évidence l'effet antimicrobien des Ulves sur des souches bactériennes à Gram positif (*Streptococcus pyodenes*, *Streptococcus pneumoniae*) et à Gram négatif (*Escherichia coli*).

- ***Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* et *Acinetobacter baumannii***

Les résultats de ces trois bactéries ont montré une absence d'activité totale, ce qui indique une résistance de ces bactéries à l'extrait éthanolique de d'*Ulva lactuca*.

L'absence d'inhibition que ce soit pour les bactéries Gram positives ou négatives peut être due soit à une résistance naturelle de ces espèces à l'extrait de l'algue, soit au choix du solvant. En effet, les méthodes expérimentales et le type de solvant utilisé constituant aussi un facteur très

important pour déterminer la bio activité des algues **Manilal et al., (2009)**, **Hellio et al., (2004)** et **Zheng et al., (2001)**.

c. L'activité antifongique :

- **Candida albicans :**

D'après les résultats des deux figures (Fig.36) et Fig.37) on remarque que l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca*, à toutes les concentrations n'a montré aucune zone d'inhibition vis-à-vis *Candida albicans*, ce qui indique une résistance de cette levure à l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca*. Nos résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par **Younes et al. (2009)** qui ont constaté que l'extrait d'*Ulva lactuca* récolté de la lagune d'Oualidia (Maroc) n'a pas d'activité inhibitrice vis-à-vis du champignon étudié *Candida neoformans*. Les résultats obtenus s'accordent approximativement également avec ceux obtenus par **Farid et al. (2012)** sur les extraits d'*Ulva lactuca* préparés dans le mélange (éthanol/dichlorométhane) récoltée à partir de la côte atlantique marocaine. D'après ces auteurs, les extraits n'ont pas montré d'effet inhibiteur contre *Candida tropicalis* et *Candida neoformans*.

4.2.3. Comparaison de l'activité antimicrobienne des deux espèces d'algues marines :

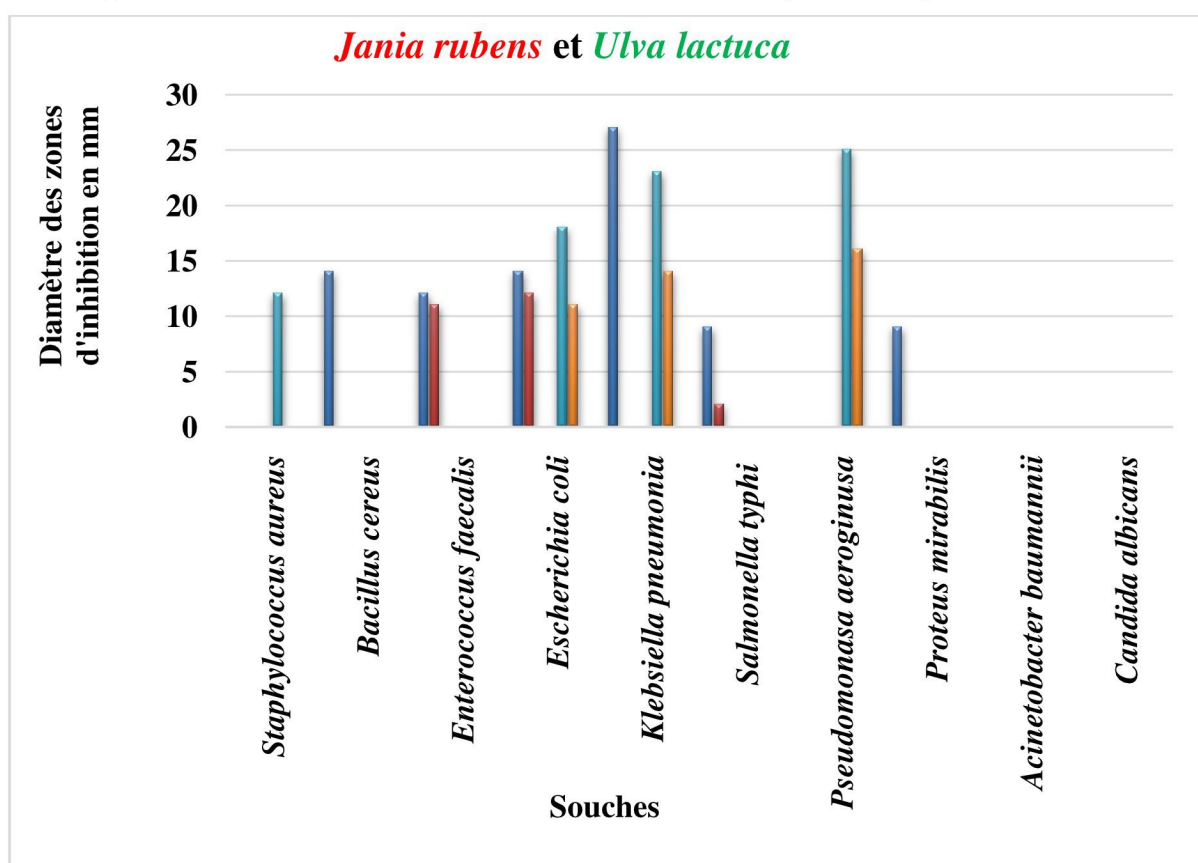


Figure 38 : Comparaison de l'activité antimicrobienne des deux algues sur les souches testées

D'après la figure 38 l'extrait éthanolique de l'algue rouge *Jania rubens* a donné un meilleur effet inhibiteur vis-à-vis 6/10 souches microbienne testées par rapport à l'extrait éthanolique de l'algue verte *Ulva lactuca* qui a pu inhiber seulement 4 souches.

4.3. Détermination des CMI et CMB :

Les résultats des deux figures 39 et 40 et du Tableau 9, montrent que nous avons pu déterminer uniquement deux valeurs de CMI, nous pouvons noter que la CMI la plus élevée est obtenue avec l'extrait éthanolique de *Jania rubens* vis-à-vis *Proteus mirabilis* qui est de 3,125 mg/ml, et on note également que la CMI la plus faible est enregistré pour l'extrait éthanolique de l'algue verte *Ulva lactuca* vis-à-vis *Pseudomonasa aeruginosa* qui est de 0,0081mg/ml.

Nous remarquons que l'effet antibactérien de l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca* est le plus efficace avec des concentrations plus au moins faibles que celles de l'extrait éthanolique de *Jania rubens*.



Figure 39 : Photographie de la microplaque pour les CMI de l'extrait de *Jania rubens*

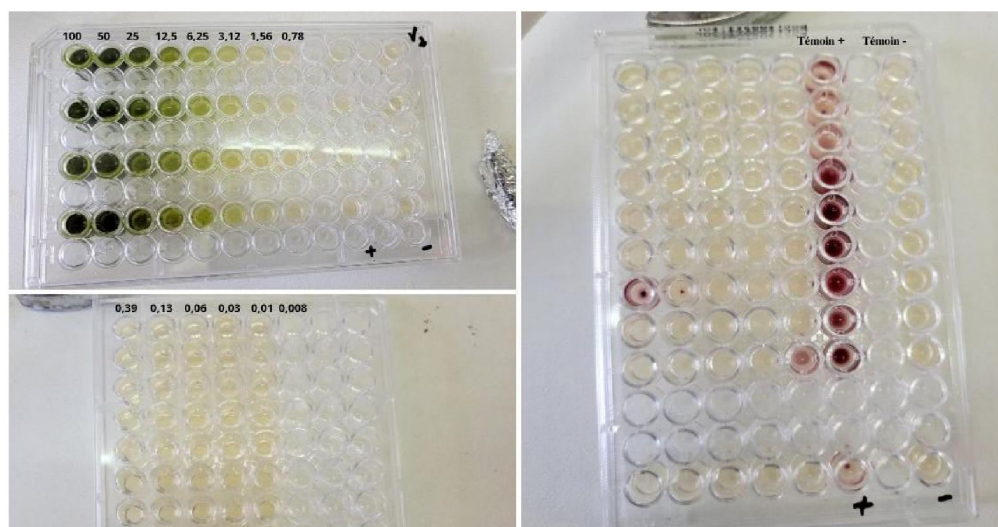


Figure 40 : Photographie de la microplaque pour les CMI de l'extrait d'*Ulva lactuca*

Tableau 9 : Récapitulatif des paramètres de l'activité antimicrobienne des deux algues

Souche	<i>Jania rubens</i>			<i>Ulva lactuca</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
<i>Staphylococcus aureus</i>	/	/	/	ND	ND	ND
<i>Bacillus cereus</i>	ND	ND	ND	/	/	/
<i>Enterococcus faecalis</i>	ND	ND	ND	/	/	/
<i>Escherichia coli</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Klebsiella pneumonia</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Salmonella typhi</i>	ND	ND	ND	/	/	/
<i>Pseudomonasa aeruginosa</i>	/	/	/	0,0081	0,004	0,4938272
<i>Proteus mirabilis</i>	3,125	1,562	0,49984	/	/	/
<i>Acinetobacter baumannii</i>	/	/	/	/	/	/
<i>Candida albicans</i>	/	/	/	/	/	/

ND : Non déterminé / : Souche résistante

4.3.1. Détermination de l'effet des extraits des deux algues :

Les résultats du Tableau 10 montrent que l'effet bactéricide des deux algues diffère d'un extrait à l'autre et d'une souche à une autre.

Selon la Figure 41 *Jania rubens* exerce un effet bactéricide vis-à-vis deux bactéries : *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis*, et possède un effet bactériostatique sur quatre souches bactériennes : *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumonia* et *Salmonella typhi* selon la Figure 42.

En revanche *Ulva lactuca* exerce un effet bactéricide sur trois bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonasa aeroginosas* selon la (Fig. 43), et possède un effet bactériostatique sur une bactérie seulement : *Klebsiella pneumonia* (Fig. 44).

La détermination des CMI par la méthode des micro dilutions sur bouillon Muller Hinton nous a permis de mettre en évidence le réel pouvoir antibactérien de ces extraits d'algues que nous n'avons pas pu obtenir sur le milieu solide, ce qui est lié à l'hydro solubilité et à la diffusion des composés phénoliques.

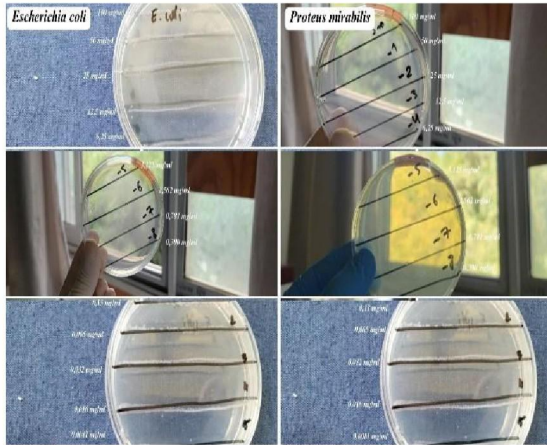


Figure 41 : Effet bactéricide de *Jania rubens*

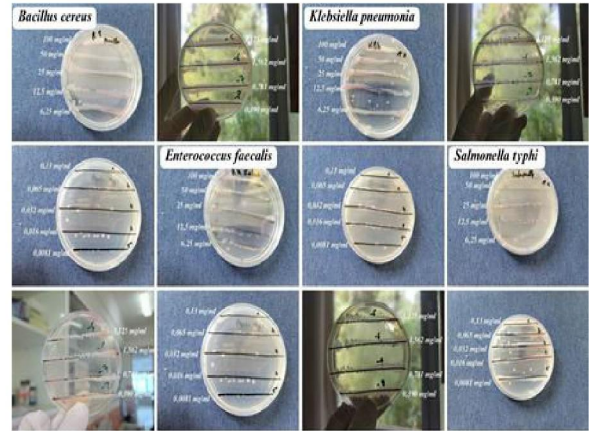


Figure 42 : Effet bactériostatique de *Jania rubens*

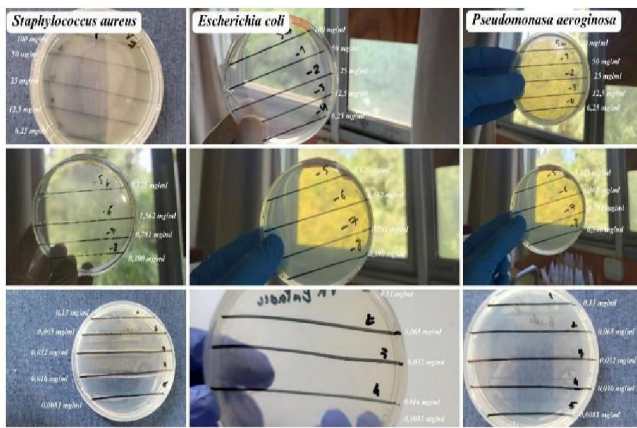


Figure 43 : Effet bactéricide d'*Ulva lactuca*



Figure 44 : Effet bactériostatique d'*Ulva lactuca*

Tableau 10 : Nature de l'activité des extraits éthanoliques des deux algues sur les souches testées

Souches / Algues	Nature d'activité	
	<i>Jania rubens</i>	<i>Ulva lactuca</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	/	Bactéricide
<i>Bacillus cereus</i>	Bactériostatique	/
<i>Enterococcus faecalis</i>	Bactériostatique	/
<i>Escherichia coli</i>	Bactéricide	Bactéricide
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Bactériostatique	Bactériostatique
<i>Salmonella typhi</i>	Bactériostatique	/
<i>Pseudomonasa aeruginosa</i>	/	Bactéricide
<i>Proteus mirabilis</i>	Bactéricide	/
<i>Acinetobacter baumannii</i>	/	/
<i>Candida albicans</i>	/	/

/ : Souche résistante

Conclusion



ALGUES VERTES



ALGUES ROUGES

Conclusion

Le présent travail s'oriente vers une voie de valorisation très peu exploitée en Algérie. Il vise à étudier les potentialités naturelles des algues marines qui forment une source intéressante et très prometteuse de substances biologiquement actives.

La recherche englobe une étude phytochimique et une évaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits éthanoliques de deux espèces d'algues marines de la côte de Skikda, appartenant à différentes familles botaniques (*Ulva lactuca* et *Jania rubens*).

Les résultats obtenus nous ont permis de calculer le rendement en extrait brut évalué à 2,5 % pour *Ulva lactuca* et 0,4 % pour *Jania rubens*. Les résultats des teneurs des composés phénoliques montrent que l'extrait éthanolique obtenu à partir de l'algue verte *Ulva lactuca* possède une teneur élevée en phénols totaux de $0,59 \pm 0,05$ mg EAG/mg extraitsec, par rapport à celui de l'algue rouge *Jania rubens* avec une teneur en phénols totaux de $0,49 \pm 0,05$ mg EAG/mg extraitsec. Quant aux teneurs en flavonoïdes, les résultats montrent une différence significative ($p < 0,05$) entre les deux algues avec une concentration faible de flavonoïdes, de $0,071 \pm 0,001$ mg EQ/gES pour *Ulva lactuca*, et de $0,065 \pm 0,0005$ mg EQ/gES pour *Jania rubens*. Pour les tannins les résultats restent proches entre les deux algues avec des teneurs de $3,573 \pm 0,011$ mg EAT/g ES pour *Jania rubens* et des teneurs de $3,353 \pm 0,011$ mg EAT/g ES pour *Ulva lactuca*.

Concernant l'activité antioxydante, nous soulignons la capacité des deux extraits étudiés à réduire le DPPH, pour l'*Ulva lactuca* les pourcentages d'inhibitions moyens varient entre 84,71% et 97,14%, dont ce dernier pourcentage d'inhibition est enregistré à la concentration de la solution mère de l'extrait (1 mg/ml), et pour *Jania rubens* les pourcentages moyens d'inhibitions varient entre 86% et 96,28%, dont le pourcentage le plus élevé est toujours enregistré à la concentration de la solution mère de l'extrait (1 mg/ml). Quant aux tests de l'ABTS, les résultats présentent une activité antioxydante pour *Jania rubens* avec un IC₅₀ de $0,2838 \pm 0,0041$ mg/ml et de $0,3762 \pm 0,1913$ mg/ml pour *Ulva lactuca*. Concernant les résultats de la réduction du CUPRAC, les résultats présentent une activité antioxydante avec un IC₅₀ d'une valeur de $150,39 \pm 0$ mg/ml pour *Jania rubens* et de $190,38 \pm 0$ mg/ml pour *Ulva lactuca*.

Les différents tests d'activité antimicrobienne ont prouvé que l'extrait éthanolique de l'algue rouge *Jania rubens* a donné un meilleur effet inhibiteur vis-à-vis 6/10 souches microbienne testées par rapport à l'extrait éthanolique de l'algue verte *Ulva lactuca* qui a pu inhiber seulement 4 souches. La zone d'inhibition la plus large est de 27 mm obtenue par l'extrait

éthanolique de l'espèce *Jania rubens* vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae*. Les CMI et les CMB les plus faibles ont été enregistrées pour l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca* (0,0081 mg/ml et 0,004 mg/ml respectivement) vis-à-vis de la souche *Pseudomonasa aeruginosa*. Par ailleurs, l'étude de l'effet de l'extrait des deux algues sur les souches testées indique qu'*Ulva lactuca* a donné un effet bactéricide contre trois bactéries, par contre *Jania rubens* a donné un effet bactéricide que sur deux souches seulement. Nos résultats sont très prometteurs en ce qui concerne la lutte contre le phénomène de l'antibiorésistance qui devient aujourd'hui un problème de santé publique, l'algue verte *Ulva lactuca* peut donc être exploitée dans le domaine pharmaceutique comme un antibiotique naturel. Cette étude a donc permis d'un point de vue fondamental de mieux connaître l'importance des extraits éthanoliques des algues étudiées, mais elle reste néanmoins préliminaire, des recherches plus approfondies s'avèrent nécessaires pour éclaircir certains points et découvrir d'autres axes de recherche.

Afin d'approfondir ce travail de recherche nous proposons les perspectives suivantes :

- ✓ Travailler sur d'autres sites d'étude avec un nombre plus élevé d'espèces.
- ✓ Utiliser différentes méthodes d'extraction.
- ✓ Etudier l'effet inhibiteur de ces extraits sur des souches pathogènes.
- ✓ Rechercher d'autres activités de ces deux espèces d'algues.

Références



ALGUES VERTES



ALGUES ROUGES

bibliographiques

Références Bibliographique

A

Abdille M.H., Singh R.P., Jayaprakasha G.K., Jena B.S., (2005). Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits, *Food Chemistry*, **90**(4). 891-896.

Abe, E., Delye, S.G., Alvarez, J.C. (2010). Liquid-liquid extraction: theory, applications and difficulties. *Annales de Toxicologie Analytique.*, **22** (2), 51-59.

Abedini, A, (2014)Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plant.Thèse De Doctorat,Pharmacognosie,Université Lille Nord De France.École Doctorale Biologie Sante

Aguilar-Briseño, J. A., Cruz-Suarez, L. E., Sassi, J. F., Ricque-Marie, D., ZapataBenavides, P., Mendoza-Gamboa, E., Rodríguez-Padilla, C. TREJO-AVILA, L. M., (2015). Sulphated Polysaccharides from *Ulva clathrata* and *Cladosiphon okamuranus* seaweeds both inhibit viral Attachment/Entry and Cell-Cell Fusion, in NDV Infection. *Mar. Drugs*.**13**: 697-712.

Amorim, R. N. S., Rodrigues, J. A. G., Holanda, M. L., Quindere, A. L. G., Paula, R. C. M., Melo, V. M. M., Benevides, N. M. B. (2012). Antimicrobial effect of a crude sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria ornata*. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **55**(2): 171-181.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, **52**(26), 7970-7981.

B

Badiaga,M. (2011).Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. Français.136p.

Bahorun, T. (1997). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food Agric.Supp* : 83-95.

Benguedouar, K. (2023). Analyse de la composition chimique et évaluation des propriétés biologiques des huiles essentielles de trois plantes aromatiques et médicinales (*Thymus willdenowii*, *Aloysia citriodora* et *Cymbopogon citratus*) et impact de leur incorporation dans le yaourt étuvé, thèse de doctorat en sciences alimentaires et Biotechnologie.

Bensouici, C., (2015). Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre *Sedum* (Crassulaceae) (Thèse). Université Frères Mentouri Constantine, Constantine.

Bigogno, C., Khozin-Goldberg, I.(2002). Accumulation of arachidonic acidrich triacylglycerols in the micro-alga *Parietochloris incisa* (Trebuxiophyceae, Chlorophyta). *Phytochemistry*. 60, 135-143.

Blois, M. S.(1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200

Bonnet, R., Caron, F., Cavallo, J. D., Chardon, H., Chidiac, C., Courvalin, P., Weber, P.(2013). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. In *Recommandations*.

Bouakaz, A ., Tran , Ta ., Roger S ., Leguennec Yg .,Tranquart F. (2006) . On the mechanisms of cell membrane permeabilization with ultra sound and microbbles. *Ultra sound in medicine of biology*. Volume 32, ISSP: 590p.

Bravo, L. (1998).Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. 56 (11): 31 7-333.

Breed, R.S., Murray, E.G.D. and Smith, N.R. (1957). *Bergey's Manual Determinative Bacteriology*. 7th Edition, The Williams & Wilkins Company, Baltimore.

Bruneton, J. (1999).Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier. paris, 1120 p.

Burtin, P. (2003). Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry*, 2Suppl 4: 498-503.

C

Cabioc'h, J., Floc'h, J. Y., Le Toquin, A., Boudouresque, C. F., Ameinesz, A., Verlaque, M. (1992).Guide des algues des mers d'Europe, p12-18. In : Delachaux et Niestlé (eds.), *Algues des mers d'Europe*. Neuchâtel, Paris.

Cacamesse , S., Azzolina, R., Rurnari, G., Gormaci, M., Grasso, S. (1980). Antimicrobial and antiviral activities of extracts from Mediterranean algae, *Bot. Mar*, (23). 285-288.

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

Caquet, R. (2004). 250 examens de laboratoire: Prescription et interprétation. Ed. *Masson*. Paris, P.453.

Comite De L'antibiogramme De La Societe Française De Microbiologie. (2016). *Recommandation*. p: 12-15, 18,23-25, 27,39-48,56-63.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3)

- Chisti, Y., (2007).** Biodiesel from microalgae. *Biotechnology advances.* 25, 294- 306.
- Chojnacka, K., Saeid, A., Witkowska, Z., Tuhy L. (2012).** Biologically Active Compounds in Seaweed Extracts - the Prospects for the Application. *The Open Conference Proceedings Journal*, 3: 20-28.
- Chouikhi, A., (2013).** Les applications potentielles des macroalgues marines et les activités pharmacologiques de leurs métabolites. *Proc. Int.Congr. Popul. Ani. Commu. VI.* p1-40.
- Cosandey, C., Bigot, S., Dacharry, M., Gille, E., Laganier, R., Salvador, P. (2003).** Les eaux courantes : Géographie et environnement, Collection Belin Sup Géographie. 240p
- Cowan, MM. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *American Society for Microbiology*, (4):12-14.7
- Crozier, A., Jaganath, I B., Clifford MN. (2006).** Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview in Plant secondary metabolites occurrence, structure and role in *the human diet.* Ed. Ltd. Singapore, P : 1-24.

D

- Delerass, C, (2008).**Pratique en microbiologie de laboratoire : recherché de bactéries et de levures-moisissures. Edition la voisier, Paris, p 146-147.
- Delmas, C. (2008).** Laboratoire de Bactériologie - Hygiène, CHU Toulouse - Institut Fédératif de Biologie (15,03,2023), Fiche technique bactériologie, [en ligne]. www.ctcb.com.
- Demoulin, G., Leymergie, C. (2009).** Les algues, le trésor de la mer Filière Nutrition et diététique ; Haute école de santé Genève
- Deslandes, E., Pondaven, E., Auperin, T., Roussakis ,C., Guézennec, J., Stiger ,V., Payri , C. (2000).** Preliminary study of the in vitro anti-proliferative effect of à hydroethanolic extract from the subtropical seaweed *Turbinaria ornata* (Turner J. Agardh) on a human non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line (NSCLC-N6) : *Journal of Applied Phycol.* 257–262.
- Dhargalkar,VK.Pereira, N. (2005).** Seaweed: Promising plant of the millennium. *Science and culture.* 71, 60-66.

E

- Elena, M., Francisco, Y., Erickson, KL. (2001).** Mailiohydrin, a cytotoxic chamigrene dibromohydrin from a Phillipine *Laurencia* species, *Journal of Natural Product.* 64Suppl 6: 790-791.

Eloff, J.N. (1998). Wich extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plant ? *Journal of Ethnopharmacology*, 60(1): 1-8.

Etahiri, S., Bultel-Ponce, V., Assobhei, O. (2004). Une nouvelle molécule à activité antibiotique à partir de l'algue rouge *Pterosiphonia complanata*, Brevet Marocain N° 27732.

Etahiri, S., Bultel-Poncé, V., Caux, C., Guyot M. (2001). New bromoditerpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*, *Journal of Natural Products*, 64(1-2). 1024-1027.

Etahiri, S., El kouri, A., Bultel-Ponce, V., Guyot, M., Assobhei, O. (2007). Antibacterial bromophenol from the marine red alga *Pterosiphonia complanata*, *Natural Product communication*, (2). 749-752

F

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba M and Abdelly C, (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. Organs, and their biological activities, *Compt. Rend. Biol*, vol: 331. 372-379 p

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2010). Annuaire statistique des pêches et de l'aquaculture 2008. Services des statistiques et de l'information du département des pêches et de l'aquaculture, Rome, 72 p.

Farid, Y., Chennaoui, M., Assobhei, O. et Etahiri, S. (2012) . Evaluation de l'effet du lieu de récolte des algues marines des côtes atlantiques Marocaines sur l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire. *Microbiol. Ind. San et Environn*, 6, 54-66.

Fleurence, J., (1999). Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science and Technology*. 10, 25-28.

Fleury, B.G., Kelecom, A., Periera, R.C., Teixeira, V.L. (1994). Polyphenol, terpene and sterols in Brazilian Dictyotales and Fucales (Pheophyta), *Bot Mar*. 457- 462.

G

Garon-Lardiere, S. (2004). Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonne maisoniales). Thèse de doctorat en chimie. Fac. Sci. Université de Bretagne occidentale, France. 332p.

GEBHARDT, S. E., THOMAS, R. G., (2002). Nutritive value of foods. *Depart. Agri. Home. Gard. Bull. Beltsville, Maryland, United States*. 72 : 1-95.

Géraldine, D., Céline L. (2009). Les algues, le trésor de la mer, Haute école de santé Genève.

Glombitza, K.W., Keusgen M. (1995). Fuhalols and deshydroxyfuhalols from the brown alga *Sargassum spi nuligerum*. *Phyiochemistry*. 38, 987-95.

Glombitza K.W., Stoffelen H., Murawiski U., Bielaczek J., Egge H. (1974). Antibiotics from algae Bromophenols from *Rhodomelaecea* : *Planta Medica*. 105-114.

H

Hamia, C., Guergab A., Rennane N., Birache M., Haddad M., Saidi M et Yousfi M. (2014) Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *rhanterium adpressium*. *Annales des sciences et technologie*. Vol 6. N° 1.

Hamid, N., Ma Q., Boulom S., Liu T., Zheng Z., Balbas J. et Robertson, J. (2015). Chapter 8- Seaweed minor constituents. In: Troy D.J., Ed. *Seaweed Sustainability, food and non-food applications* Academic Press, San Diego, 193-242.

Havesteen, BH. (2002). The biochemistry and medical sinificance of the flavonoides, *pharmacol ther*, 96(2-3):67-202.

Hayouni, E.A, M. Abedrabba, M. Bouix, M. Hamdi. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *France. Food Chemistry*.105(3): 1126–1134.

Hellio, C., Marechal J.P., Véron B., Clare A.S., Le Gal Y. (2004). Seasonal Variation of Antifouling Activities of Marine Algae from the Brittany Coast (France), *Marine Biotechnology*, (6).67-82.

Hennebelle, T, Sahpaz S et Bailleul F. (2005). Pharmacologie : polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, (1): 3-6.

Heo,S.J., Cha, S.H., Lee,K.W., Cho, S.K., Jeon, Y.J. (2005).Antioxidant activities of Chlorophyta and Phaeophyta from Jeju Island. *Algae*; 20(3): 251-260.

Holdt, S.-L. et Kraan S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Physiology*, 23: 543-597.

Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*. 2 ème édition. Edition de *Boeck Université*, p 268, 280.

I

Ignat, C. M., (2012). Compatibilité et co-structuration dans des systèmes contenant des scléroprotéines et des polysaccharides. Thèse de doctorat en Chimie des polymers. UFR Sci. Tech. Pau, France. 79p.

J

James, T. Staley, Chairman, David R. Boone, Vice Chairman, Don J. Brenner, Paul De Vos, George M. Garrity, Michael Goodfellow, Noel R. Krieg, Fred A. Rainey, Karl-Heinz Schleifer, (1925) , Bergey's manual of Systematic Bacteriology 2 nd Edition, The Williams & Wilkins Company, Baltimore, Vol 2

Jiao, G., Yu, G., Zhang, J., Ewart, H. S. (2011). Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Mar. Drugs*. 9: 196-223.

Jimenez-Lopez ,C., Carpena , M., Lourenço-lobes, C., Galladro-Gomez , M., Lorenzo ,J.M., Barba F.J., Prieto M.A. , Simal-Gandara., J. (2020) - Bioactive Compounds and Quality of Extra Virgin Olive Oil. *Foods*, 9(8): 1014.

Joffin, J.N. &Leryral, G (2001). Microbiologie. Dictionnaire des Techniques, 3ème ED., Collection biologie Technique. CRDPd'aquitaine, Bordeaux .105p.

K

Karou, D., Dicko M.H., Simpoire, J. and Traore A.S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphénols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, 4 (8) : 823-828.

Kerman, B., Boukou A., Itgarets, S. (2013).Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois algues marines de la cote de Bejaia, mémoire de master en microbiologie, université de Abderrahmane Mira Bejaia

Kim, Jh. Hudson Jb., Huang, Am, Bannistes, K., Jin, H., Choi, Tj. Towers Ghn, Hong YKand Dewreede Re. (1997). Biological activities of seaweed extracts from British, Columbia, Canada and Korea. I. Antiviral Activity. *Can. J. Bot. Rev. Can. Bot.* 75Suppl 10: 1656-1660

Koivikko R, Loponen, J., Eranen, JK et Jormalainen, V. (2008). Variation of phlorotannins amongthree populations of *Fucusvesiculosus* as revealed by HPLC and colorimetric quantification. *Journal of ChemicalEcology*. 34, 57-64.

Kolanjinathan, K., Ganesh, P. and Govindarajan, M. (2009). Antibacterial activity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 13, 173-177.

Ktari, L., Guyot, M. (1999). A cytotoxic oxysterol from the marine algae *Padina pavonica*, *Journal of Aplied Phycology*, (11).511-513.

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

Kumar, A.K., 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

Lagane, C. (2007). Rôle de l'il-13 et des ligands de ppar- γ dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *candida albicans*. Implication de ppar- γ , thèse de doctorat, Immuno-pathologie, oncogénèse et signalisation cellulaire, université Toulouse III – Paul Sabatier

Leclerc, V., Floc'h, J.Y. (2010). Les secrets des algues. [s.l.] : [s.n.], (Carnets de sciences, ISSN 2110-2228).

Lima-Filho, J.V.M., Carvalho, AFFU, Freitas., S.M., Melo, V.M.M. (2002). Antibacterial activity of extracts of six macroalgae from the Northeastern Brazilian coast. Brazilian Journal of Microbiology. 33, 311-313.

Lugasi, A, Hóvári, J., Sági, Kv and Bíró L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Acta biologias zegediensis, 47 (1-4): 119-125

M

Macartain, P., Gill, C. I. R., Brooks, M., Campbell, R., Rowland, I. R. (2007). Nutritional value of edible seaweeds. *Nut. Rev.* 65: 535-543.

Matanjun, P., Mohamed, S., Mustapha, N.M., Muhammad K. (2009). Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. Journal of Applied Phycology, 21: 75-80

Manilal, A., Sujith S., Seghal Kiran, G., Selvin, J., Shakir C., Gandhimathi, R., Lipton A.P. (2009). Antimicrobial potential and seasonality of red algae collected from the southwest coast of India tested against shrimp, human and phytopathogens. *Annals of microbiology*, 59 (2). 207-219.

Marfaing, H et Lerat, Y. (2007). Des ressources marines : Les algues ont-elles une place en Nutrition ? *Phytothérapie.* 2-5.

Marfaing, H., (2004). Les algues dans notre alimentation : Intérêt nutritionnel et utilisations. CEVA, Dietecom Bretagne. *Rev Nut. Prat.* 1-9

Maréchal, J.P, Culioli, G., Hellio C., Thomas-Guyon, H., Callow ME, Clare, AS., et Ortalo - Magné, A. (2004). Seasonal variation in antifouling activity of crude extracts of the brownalga *Bifurcaria bifurcate* (Cystoseiraceae) against cyprids of *Balanus Amphitrite* and themarine bacteria *Cobetia marina* and *Pseudoalteromonas haloplanktis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*313: 47-62

Meenakshi, S., Gnanambigai, D.M.(2009). *Global Journal of Pharmacology.* 3, 59- 63

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

Misurcova, L., Kracmar, S., Klejdus, B., Vacek, J. (2010). Nitrogen content, dietary fiber and digestibility in algal food products. *Czech. J. Food. Sci.* 28(1): 27-35.

Mohamed, A., Khalil, A.A and El-Beltagi, HES. (2009). Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of kaffmaryam (*Anastatica hierochuntica*) and doum palm (*Hyphaenethebaica*) cultivated in Egypt. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2 (2): 71-79.

Moujahid, A., Bencharki, B.L., Hilali, A., Bagr, L., Najim L., (2004). Activitésantibactérienne et antifongique des extraits d'algues marines d'origine marocaine, *biologie etsanté*, 4(2). 299.

Mouradi, A., Chikhaoui, M., Fekhaoui, M., Bennasser, L., Chiadmi, N., Thierry, G. (2008). Croissance et Capacité Reproductive d'*Hypnea musciformis* (Rhodophyceae, Gigartinales) de la Côte Atlantique Marocaine. *Afriq. Sci.* 4(1): 99-124

Mukhopadhyay, S., Luthria, D. L., & Robbins, R. J. (2006). Optimization of extractionprocess for phenolic acids from black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) by pressurized liquidextraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1), 156-162.

N

Naegelé, E et Naegelé, A. (1967). *Les algues.* Edition : Presses universitaire de France. Paris. 127p.

Naghraoui, M. (2012). Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait brut et ses fractions de l'algue rouge *Coraiina officinalis*, récoltée sur la côte ouest algérienne (plage de Madrid) (Doctoral dissertation).

Nayeemulla, S., Sudarshana, M.S., Umesha S. & Hariprasad P. (2006). Antimicrobial activity of *Rauwolfia tetraphylla* and *Physalis minima* leaf and callus extracts. *African Journal of Biotechnology.* 5(10): 946-950.

Nouadri, T., Benkhallaf, A., Biad, I. (2014). L'effet de l'activité inhibitrice des extrais polyphénoliques des algues marines sur L' α -amylase salivaire in vitro, mémoire de master en biochimie, université de Constantine 1.

O

Okai, Y., Higashi, O.K., Ishizaka, S., and Yamashita, U. (1997). Enhancing Effect of polysaccharide from an edible brown alga, *Hijikia fusiforme* (Hijiki), on release of tumour necrosis factor alpha from macrophages of endotoxin nonresponder C3H/HeJ Mice. *Nutr Cancer*. 27Suppl 1: 74-79.

Okou1, O.C., Yapo, S.E.S., Kouassi1, K C., Komenan1, N'G R, Monthaut1, S V., Kra, A K M et Djaman A J, (2019). Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de fruits de *Solanum torvum* Swartz (Solanaceae) sur la croissance *in vitro* de sept (07) souches d'entérobactéries de différents profils (résistantes ou sensibles) , *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 13(3): 1510-1526, ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631

Omar, H.H., Shiekh H.M., Gumgumjee, N.M., El-Kazan, M.M and El-Gendy, AM. (2012).Antibacterial activity of extracts of marine algae from the red sea of Jeddah Saudi Arabia.*African Journal of Biotechnology*. 11suppl 71: 13576-13585.

Oranday, M. A., Verde, M. J., Martinez-Lozano, S. J., & Waksman, N. H. (2004). Active fractions from four species of marine algae. *Phyton (Buenos Aires)*, 73, 165-170.

P

Person, J. (2010). Algues, filières du futur, colloque algues : filières du futur, livre turquoise, Adèbiotech- Romainville. 200pp.

Premila, JC, Raviraja NS et Sridhar, KR. (1996). Antimicrobial activity of some marine algae of southwest coast of India. *Indian J. Mar.Sci.* 26Suppl 2: 201-205.

Price, M. L., Van Scoyoc, S., & Butler, L. G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of agricultural and food chemistry*, 26(5), 1214-1218.

R

Rajakpase, N., Kim, S. K. (2011).Nutritional and digestive health benefits of seaweed. *Adv. Food. Nutr. Res.* 64: 17-28.

Ravi , b. N., Murphy ,P. T., Lidgard, R. O., Warren, R. G., Wells, R. J. C. (1982). 18 terpenoid metabolites of the brown alga *Cystophora moniliformis*, *Aust. J. Chem.*, (35). 171 182.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

Reichelt, J. L., Borowitzka, M.A. (1984). Antimicrobial activity from marine algae: Result of a large screening programme, *Hydrobiol.*, (1). 116/117.

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

S

Sabeena Farvin, K. H., Jacobsen, C. (2012). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food chemistry.* 138, 1670–1681.

Sánchez-Machado, D.I., López-Cervantes, J., López-Hernández, J., Paseirolosada, P. (2004). Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*, 85: 439- 444.

Santoyo, S.A.I., Rodríguez-Meizoso, B.A., Cifuentes, B.L., Jaime a, G. García-BlairsyReina C.F.J. Senñorans A, E., Ibañez B. (2009). Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. *LWT-Food Science and Technology* 42(7):1213–1218.

Sava, C., Sirbu, R.(2010). *Ovidius University Annals of Chemistry.* 21 et 29-34

Seenivasan, R., Rekha. M., Indu. H., Geetha, S. (2012). Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of Selected Seaweeds from Mandapam Coast, India. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2(10), 159-169.

Singleton, V.L., Rossi, J.A., (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphor-molybdic phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, (16). 144-158.

Smit, A. J., (2004). Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: *Journal of applied Psychology*: 254-262.

Steinberg, P.D., Schneider, S. (1997). Chemical defences of seaweeds against microbial colonization: *Biodegradation.* 211–220.

Stengel, D.B., S. Connan., Z.A. Popper. (2011). Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advances*, 29:483501

T

Takaichi, S., (2011). Carotenoids in Algae: Distributions, Biosyntheses and Functions. *Mar. Drugs.* 9: 1101-1118.

Tierney, M.S., Croft, A.K., Hayes, M. (2010). A review of antihypertensive and antioxidant activities in macroalgae. *Botanica Marina*, 53: 387-408.

Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Bourgou, S., Hajlaoui, H., Abdelly, C. (2010). Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *Food Sci Tech*. 43: pp 632639

Tunçel, G., Nergiz, C. (1993). Antimicrobial effect of some olive phenols in laboratory medium. *Litters in Applied Microbiology*, 17(6): 300-302

V

Vasconsuelo, A., Boland, B., (2007). Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Science*. 172, 861-875.

Venugopal. V. (2009). Marine products for healthcare functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean. Edition: Taylor & Francis group. Boca Raton, London and New York. 552p.

Vermerris, W., Nicholson, R. (2006). Phenolic compound biochemistry. Ed. Springer. USA, P: 267

Viola, R., Nyvall, P. and Pedersen, M. (2001). *Proc Biol Sci* 268(1474): 1417-22. "The unique features of starch metabolism in red algae."

Vuolo, M. M., Lima V. S., Maróstica Junior M. R. (2019). Chapter 2 - Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. *Bioactive Compounds*. M. R. S. Campos, Woodhead Publishing: 33-50.

W

Waterhouse, A. (1999). Folin-ciocalteau micro method for total phenol in wine. *American Journal of Enology and Viticultur*, 28(1), 49-55.

Wright, A. D., M. Konight G., Angerhofer, C. K., Greenidge, P., Linden, A., Desquerouxfandez R. (1997). Anti-malarial activity: the search for marine-derived natural products with selective anti-malarial activity, *Journal of Natural Products*, (59). 710-716.

X

Xie, J., Schaich, K. M. (2014). Re-evaluation of the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(19), 4251-4260.

Y

Yoshie-Stark, Y, Hsieh, YP, Suzuki, T. (2003). Distribution of flavonoids and related compounds from seaweeds in Japan. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, 89, 1-6.

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

Z

Zbakh, H., Chiheb, H., Bouziane, B., Sanchez, V.M., Riadi, H. (2012). Antibacterial activity of benthic marine algae extracts from the mediterranean coast of Morocco. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences*. 2 Suppl 1: 219-228.

Zitouni, H., Kardache, A., khoualdi, Y. (2016). Étude des activités antioxydante, antibactérienne et antifongique d'extraits d'algues marines d'origine algérienne, mémoire de master en microbiologie, université de Frères Mentouri Constantine.

Zhao, J., Davis, C. L., Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to Production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 23, 283-333.

Zheng, Y., Chen, Y.S., Lu, H.S. (2001). Screening for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the Fujian coast of China with three different solvents. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 19 (4). 327-33

Zubia, D., Robledo, D., Freile-Pelegrin, Y. (2007). Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan peninsula Mexico, *Journal of Applied Phycology*, (19). 449-458.

Annexes



ALGUES VERTES



ALGUES ROUGES

Annexe 01 : Évaluation de l'activité antioxydante

1. Le test de l'activité antioxydante par DPPH :

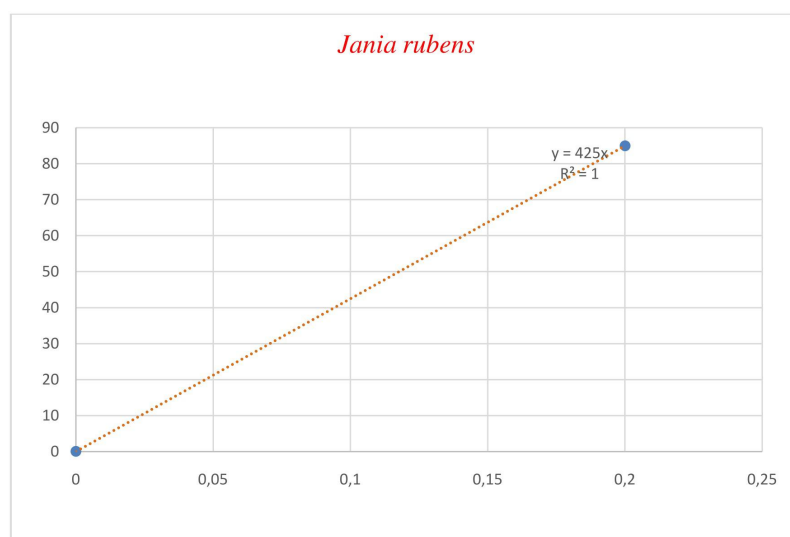


Figure 01 : Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait éthanolique de *Jania rubens*

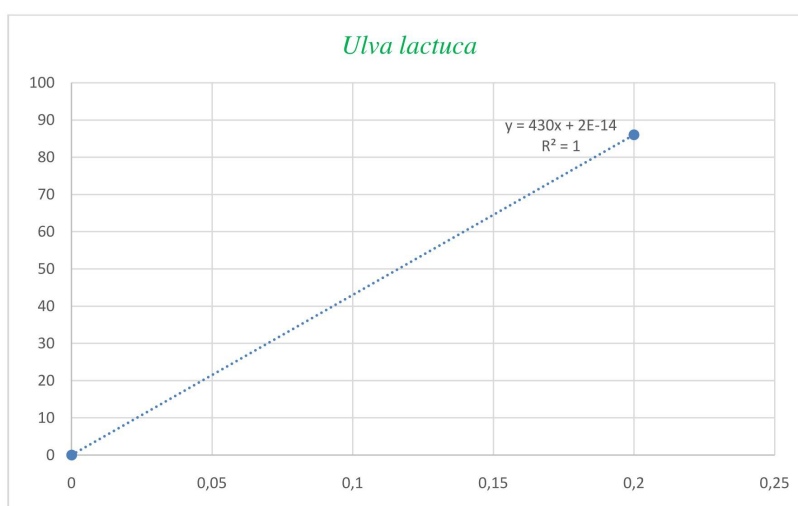


Figure 02 : Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca*

2. Le test de l'activité antioxydante par ABTS :

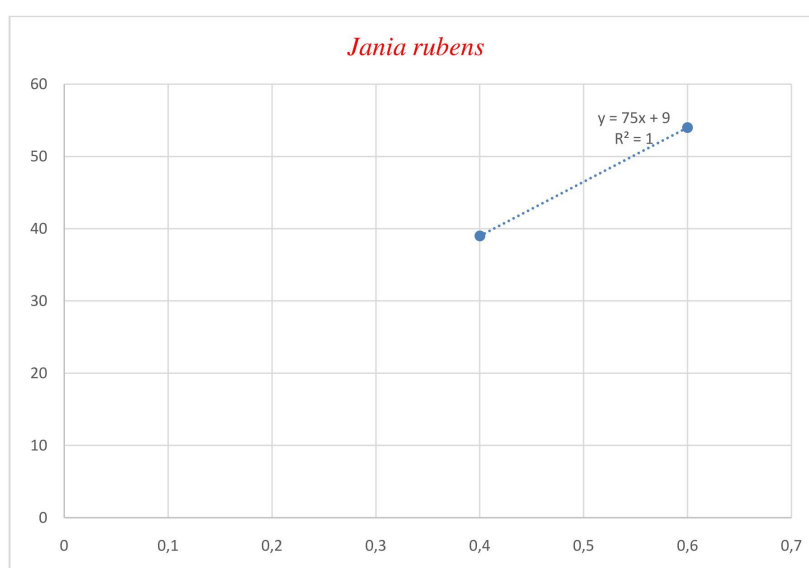


Figure 03 : Pourcentage d'inhibition de l'ABTS par l'extrait éthanolique de *Jania rubens*

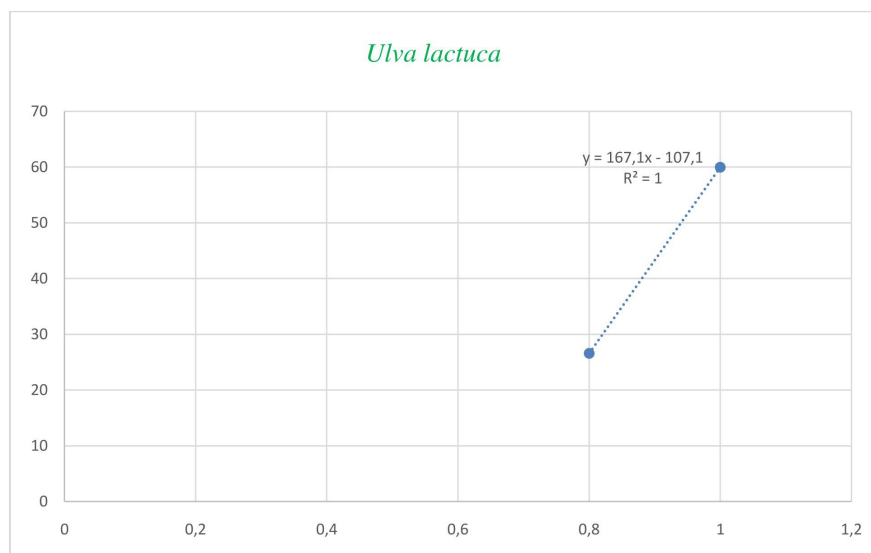


Figure 04 : Pourcentage d'inhibition de l'ABTS par l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca*

3. Le test de l'activité antioxydante par CUPRAC :

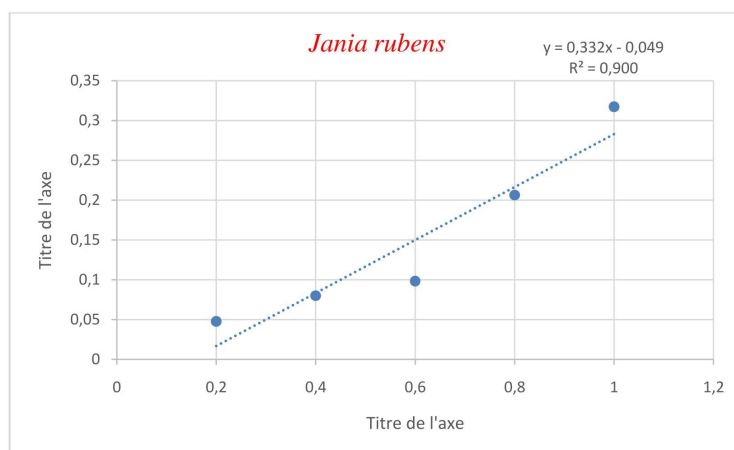


Figure 05 : Pourcentage d'inhibition du CUPRAC par l'extrait éthanolique de *Jania rubens*

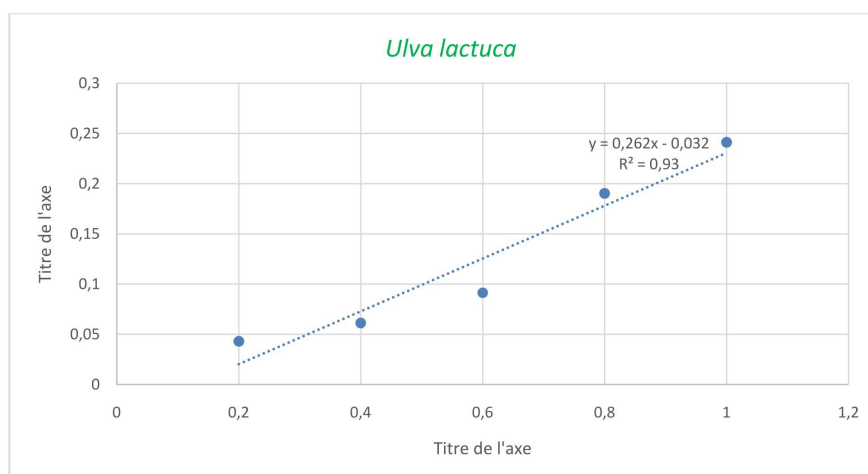


Figure 06 : Pourcentage d'inhibition du CUPRAC par l'extrait éthanolique d'*Ulva lactuca*

Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de deux espèces marines dans la région de Skikda

Annexe 02 : Vérification des souches :

1. Observation macroscopique des colonies bactériennes

Tableau 01 : Description macroscopiques des colonies

Souche	Forme	Relief	Contour	Taille	Surface	Opacité	Couleur	Consistance
<i>S. aureus</i>	Circulaire	Plat	Régulier	Ponctiforme	Smooth	Opaque	Jaunâtre	Crémeuse
<i>B.cereus</i>	Circulaire	Plat	Ondulé	Petite	Smooth	Opaque	Beige	Muqueuse
<i>E. faecalis</i>	Circulaire	Plat	Régulier	Petite	Smooth	Translucide	Beige	Crémeuse
<i>E. coli</i>	Circulaire	Convexe	Régulier	Petite	Smooth	Translucide	Beige	Crémeuse
<i>K.pneumonia</i>	Circulaire	Plat	Régulier	Petite	Smooth	Opaque	Beige	Crémeuse
<i>S.typhi</i>	Circulaire	Bombée	Régulier	Petite	Smooth	Translucide	Blanchâtre	Crémeuse
<i>P.aeruginosa</i>	Irrégulière	Plat	Régulier	Ponctiforme	Smooth	Opaque	Beige	Crémeuse
<i>P.mirabilis</i>	Circulaire	Plat	Régulier	Ponctiforme	Smooth	Opaque	Beige	Crémeuse
<i>A. Baumannii</i>	Circulaire	Plat	Régulier	Petite	Smooth	Opaque	Beige	Crémeuse
<i>C. albicans</i>	Circulaire	Convexe	Régulier	Grande	Smooth	Opaque	Blanchâtre	Muqueuse

2. Observation microscopique des souches (coloration de Gram)

Tableau 02 : Description microscopique des souches

Souche	Gram	Forme	Mode de groupement
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Cocci	En amas, ou en grappe de raisin
<i>Bacillus cereus</i>	+	Bacille	Isolé
<i>Enterococcus faecalis</i>	+	Cocci	Isolé, en paire, ou en courte chaîne
<i>Escherichia coli</i>	-	Colibacille	Isolé, en paire
<i>Klebsiella pneumonia</i>	-	Bacille	Isolé, ou en paire
<i>Salmonella typhi</i>	-	Bacille	Isolé
<i>Pseudomonasa aeruginosa</i>	-	Bacille	Isolé, ou en paire
<i>Proteus mirabilis</i>	-	Bacille	En paire, ou en longue chaîne
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	Bacille coccoïde	En paire, ou en courte chaîne
<i>Candida albicans</i>	+	Ovoïde	Isolé, ou en amas

3. Activité antimicrobienne :

Tableau 03 : Les diamètres des zones d'inhibition en mm obtenus avec les différentes concentrations des extraits éthanoliques des deux algues marines sur les souches testées

Souche/Dilutionmg/ml	100	10	1	0,1	Catégorie	100	10	1	0,1	Catégorie
<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	Résistante	12	0	0	0	Intermédiaire
<i>B. cereus</i>	14	0	0	0	Intermédiaire	0	0	0	0	Résistante
<i>E. faecalis</i>	12	11	0	0	Intermédiaire	0	0	0	0	Résistante
<i>E. coli</i>	14	12	0	0	Intermédiaire	18	11	0	0	Sensible
<i>K. pneumonia</i>	27	0	0	0	Sensible	23	14	0	0	Sensible
<i>S. typhi</i>	9	2	0	0	Intermédiaire	0	0	0	0	Résistante
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	Résistante	25	16	0	0	Sensible
<i>P. mirabilis</i>	9	0	0	0	Intermédiaire	0	0	0	0	Résistante
<i>A. baumannii</i>	0	0	0	0	Résistante	0	0	0	0	Résistante
<i>A. albicans</i>	0	0	0	0	Résistante	0	0	0	0	Résistante

