

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

CENTRE UNIVERSITAIRE DE JIJEL

المركز الجامعي جيجل

INSTITUT DE SCIENCES

معهد العلوم الطبيعية

DE LA NATURE

Mémoire

*De Fin d'étude en vue de L'obtention du Diplôme
D'étude supérieure en biologie
Option MICROBIOLOGIE*

Thème



***EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE
A PARTIR D'UN MELANGE, D'EXTRAITS D'ALGUES FRAICHES OBTENU
PAR DIFFERENTS SOLVANTS***

Présenté par :

- Kerrouche Daouia
- Ben Ghalia Yasmina
- Abed Madjda



encadré par :

Mme : Bahri Fathia

*Année universitaire
2001-2002*

Remerciement

Nous tenons à formuler notre gratitude et notre profonde reconnaissance à l'égard de notre promoteur Madame BEHRI FTHIA pour sa confiance et sa disponibilité.

Nous remercions monsieur BRAHMI CHAKER qui nous a énormément aidés au cours de l'accomplissement de ce travail.

Nos remerciements vont au personnel du laboratoire d'hygiène de JIJEL.

Nos remerciements vont aux membres du jury pour nous avoir honorés en acceptant de juger notre travail.

Que l'ensemble des enseignants qui ont contribué par leurs dévouements et leurs compétences à notre formation acceptant nos remerciements les plus sincères.

Que le personnel de la bibliothèque de l'université de CONSTANTIN, et le personnel du secteur de la pêche et de l'aquaculture en JIJEL, trouve ici le témoignage de notre reconnaissance pour la documentation qu'il a bien voulu mettre à notre disposition

Enfin « un grand merci » s'adresse à nos collègues qui nous ont tellement supportés tout au long de la période de notre formation.

SOMMAIR

Introduction

	4
Partie théorique	
I-Algue	3
I.1- définition	3
I.2- classification	3
I.2.1- Les algues bleues .	3
I.2.2- les algues vertes .	3
I.2.3- les algues brunes .	4
I.2.4- les algues rouges .	5
I.3-Composition des algues marines	5
I.4- les domaines des utilisation des algues marines.	7
I.4.1- L'alimentation humaine.	7
I.4.2- L'alimentation du bétail	7
I.4.3-L'horticulture et l'agriculture	7
I.4.4- Les extraits d'algues	7
I.4.5- L'application médicale, paramédical et pharmaceutique	8
I.4.6- L'utilisation dans le lagunage	8
I.4.7- L'utilisation de la biomasse des algues	8
II- antibiotique	8
II.1-définition	8
II.2- Mode d'action d'antibiotique	9
II.3- Mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques	10
II.4- Etude de l'activité antibactérienne	11
II.4.1- Méthode de dilution	11
II.4.2- Méthode de diffusion	12
III- bactéries	13
Partie pratique :	
I- Matériel et méthodes	19
I.1-Material	19
I.2- Solvants et milieu de cultures	19
II- Préparation de l'extrait brute des algues étudié	20
III-Souches bactériennes	21
III.1- Isolement et identification	21
III.1.1- <i>Esherichia coli</i>	21
III.1.1.1-Coloration de Gram	21
III.1.1.2- Isolement	21
III.1.1.3- Identification	21
III.1.2- <i>Klebsiella pneumonea</i>	21
III.1.2.1- Coloration de Gram	21
III.1.2.2-Isolement	21
III.1.2.3-Identification	21
III.1.3- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
III.1.3.1Coloration de Gram	22
III.1.3.2-Isolement	22
III.1.3.3-Identification	22
III.1.4- <i>Proteus</i>	22
III.1.4.1-Coloration de Gram	22
III.1.4.2-Isolement	22
III.1.4.3-Identification	22

III.1.5- <u>Staphylococcus aureus</u>	22
III.1.5.1.Coloration de Gram	22
III.1.5.2-Isolement	22
III.1.5.3-Identification	23
III.2-Preparation de culture jeunes	23
IV- L'étude de l'activité anti bactérienne des extraits d'algues marines fraîches traitées par différents solvants	23
IV.1-Méthode de dilution	23
IV.2-Méthode de diffusion	23
V-Etude de l'activité antibactérienne a partir des mélange des différents extraits	24
V.1- Méthode de dilution	24
V.2-Méthode de diffusion	24
Discussion	33
Conclusion	35

Introduction

Le milieu marin offre une grande richesse en substance pharmaceutiques. Voila une trentaine d'années, l'extraordinaire diversité de la faune et la flore marines a incité les scientifiques à se mettre en quête de nouvelles molécules, aux propriétés chimiques inédites.

Néanmoins, après plus d'un quart de siècle d'effort et beaucoup de desillusions, les richesses du milieu marin commencent à être exploitées dans le domaine de la pharmaceutique (9).

Parmi les plantes marines les plus étudiées ; les algues. En effet plusieurs substances alguales sont aujourd'hui repertoriées. Certaines d'entre elles, possédant des propriétés potentiellement thérapeutiques, font l'objet d'essais cliniques ou sont déjà commercialisés (9), (10).

Parmi les substances alguales prometteuses on cite: les anticancéreuses, les antivirales, les hémostatiques, les antifongiques et les antibactériennes (7), (9).

Les études ont montrés que l'activité antibactérienne des algues est liée à la technique, aux solvants utilisés pour l'extractin de substances antibiotiques, à l'algue elle même et aux variations saisonnières et géographiques (6), (7).

Dans notre travail, nous nous somme intéressées à l'activité antibactérienne de trois algues (rouge, verte et brune) isolées du littoral de Jijel. Nous avons utilisés des algues fraîches, étant donné que le séchage peut altérer certaines substances bioactives entre autres les enzymes (9), (6). Nous avons également utilisés quatre solvants pour l'obtention des extraits bruts et nous avons testés l'activité antibactérienne des algues à partir d'un mélange d'extraits, obtenus par les quatre solvants, sur six souches bactériennes pathogènes pour l'homme.

Les objectifs de notre travail sont:

PARTIE
THEORIQUE

I-Algue :

I.1-Définition:

Les algues marines ont une structure beaucoup plus simple que celles des végétaux terrestres. Sans racines, ni fleurs, ni sève, ni feuilles, ni vaisseaux conducteurs, elles forment des thalles qui peuvent être plus ou moins ramifiées en filaments ou en lames.

Les algues sont des autotrophes, synthétisant toutes seules leurs constituants vitaux avec un peu de gaz carbonique et les éléments de la mère. La reproduction des algues présente de multiples modalités.

- La reproduction asexuée procède par fragmentation des thalles ou par formation des spores.
- La reproduction sexuée se caractérise par la fusion d'un gamète male et d'un gamète femelle, ce qui donne un œuf ou zygote. (1)

I.2-Classification:

On peut classer les algues en quatre catégories qui sont les suivantes :

I .2.1-les algues bleues :

Les algues forment habituellement une écume microscopique (mousse) sombre sur le vase, les rochers ou, une couche veloutée sous les coques des bateaux. La plupart sont bleu-vert foncé, et peuvent prospérer dans les eaux polluées ou toute autre vie est impossible.

Les algues bleues n'ont pas d'organes spécialisés, dans la reproduction, celle-ci s'opère par la division spontanée de cellules qui donnent naissance à d'autres individus par exemple : Les *calothrix* : ont la forme de touffes de filaments bleu-vert sombre. Elles vivent dans le vase, sur les hauts fonds ou en parasites sur les autres plantes marines. (8)

I .2.2-les algues vertes :

La plupart de ces algues sont des végétaux terrestres que l'on trouve dans l'eau douce et sur les sols humides. Les espèces marines se rencontrent le long de tous les rivages (cotes), mais sont surtout abondantes dans les eaux tièdes. Certaines sont monocellulaires. Les plus connues ont la forme de filament, de feuilles irrégulières ou de frondes dentelles.

Les algues vertes portent des spores, qui sont des organes reproducteurs, mais nombre d'entre elles peuvent aussi se reproduire par la division cellulaire(8). Parmi les algues de ces catégories on cite :

Ulva lactuca :

Présentation: cette algue se présente sous forme de lames minces, constituées de deux couches de cellules accolées, elles sont larges et doucement ondulées, d'un beau vert lumineux.

Taille: 25 cm.

Profondeur: 10 m.

Biologie: cette algue appelée la laitue de mer se reproduit toute l'année avec un maximum de développement en été.

Distribution: l'atlantique, la méditerranée. (1)

I.2.3-Les algues brunes :

Sont des algues les plus grandes et les plus intéressantes : elles se reproduisent, soit par division cellulaire, soit par la fertilisation de spores qui munis des cils natatoires, se déplacent librement dans l'eau. La chlorophylle, qui donne la couleur verte aux feuilles des végétaux terrestres, n'est pas absente dans les algues brunes ; la phycophéine. Des bancs d'algues brunes très étendus prospèrent le long des rivages rocheux des mers froides ou tempérées(8). Parmi les espèces de cette catégorie :

Ascophyllum nodosum :

présentation: Le thalle brun olive est un bouquet de lanières et épaisses, régulièrement ramifiées, renflées de place en place par des vésicules ovales et creuses, les flotteurs.

Taille : 1m.

Profondeur : 0m (en surface).

Biologie: Le nombre de vésicule de l'axe principale permet de déterminer l'âge d'un thalle. La première vésicule apparaît la troisième année et il s'enforme une par an.

Distribution: l'atlantique, la méditerranée.(1)

I.2.4- Les algues rouges :

Ces algues sont remarquables par leur forme et leur teinte délicate. La plus part de leurs espèces préfèrent les eaux froides et profondes.

Les algues rouges s'en accommodent fort bien car les radiations bleues et violettes sont absorbées par la phycoérythrine (pigment associé à la chlorophylle) ; qui donne leur couleur. Elles sont aplaties ou en forme de massue(8). Parmi ces algues on cite :

***Chondrus crispus* :**

Présentation: c'est une algue coriace, d'un rouge foncé, souvent irisé.

Taille: 15 cm.

Profondeur : 10m.

Biologie: l'algue est récoltée pour l'exploitation industrielle du carraghénane qui sert d'émulsifiant dans la fabrication des glaces et des entremets.

Distribution: l'atlantique, la méditerranée. (1)

I.3-Composition des algues marines :

Les algues marines sont riches en matière minérale, que celle-ci soit en grande quantité (macro-éléments) ou, en très faibles quantités (oligo-éléments) : substances qui jouent tout un rôle essentiel dans notre développement et notre fonctionnement biologique, d'autant plus que les algues les fournissent sous formes organiques, beaucoup mieux assimilables par l'organisme que sous la forme minérale utilisée dans les spécialités diététiques ou pharmaceutiques.

Les algues sont riches également en acides aminés ; parmi lesquels sont présents les huit essentiels que l'organisme ne peut pas synthétiser.

Les algues renforcent également les vitamines nécessaires au bon équilibre de différentes fonctions de l'organisme humain.

Le tableau I montre l'extraordinaire richesse tant qualitative des algues marines en élément vital dont nous avons besoin. (9)

Tableau I : La composition analytique moyenne des algues marines : (9)

ANALYSE MOYENNE DES ALGUES MARINES SÈCHES	
Eau(10%)	
Matières organiques (70%)	Matières minérales (20%)
<p>Glucides (57%), notamment :</p> <ul style="list-style-type: none"> Acide alginique Carraghénanes Fucosane Gélose Laminarane Mannitol Cellulose <p>Lipides (4%)</p> <p>Protides (9%), notamment les acides aminés suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> Acide aspartique Acide glutamique Alanine Arginine Asparagine Cystine Glycine Histidine Isoleucine Leucine Lysine Méthionine Phénylalanine Proline Sérine Thréonine Tryptophane Tyrosine Valine <p>Vitamines:</p> <ul style="list-style-type: none"> A (rétinol) B1 (thiamine) B2 (riboflavine) B3 ou PP (nicotinamide) B6 (pyridoxine) B12 (cobalamine) C (acide ascorbique) D3 (cholécalférol) E (tocophérol) 	<p>En assez grande quantité (macro-éléments) classés par ordre décroissant de teneur :</p> <ul style="list-style-type: none"> Potassium Chlore Sodium Calcium magnesium Soufre Phosphore Iode Fer Cuivre Manganèse <p>En faible quantité(oligo_element) classés par ordre alphabétique :</p> <ul style="list-style-type: none"> Aluminium Antimoine Argent Arsenic Baryum Béryllium Bismuth Bore Brome Cadmium Cérium Chrome Cobalt Étain Fluor Gallium Germanium Lithium Mercure Molybdène Nickel Or Plomb Rubidium Sélénium Silicium

<p>K (phylloquinone)</p> <p>Phytohormones ou auxines (hormones de croissance et de développement chez les végétaux) notamment de nombreuses : Gibberillines</p> <p>Pigments: Chlorophylle Carotène Xanthophylle Phycobiline</p>	<p>Strontium Thallium Titane Vanadium Zinc</p>
---	--

I.4-Les domaines d'utilisation des algues marines :

Plus de deux cents genres d'algues marines, correspondant sans doute à plusieurs milliers d'espèces, ont été exploitées ou étudiées en vue d'une exploitation(10). Les différentes utilisations de ces végétaux peuvent être regroupées autour de sept thèmes principaux :

I.4.1- L'alimentation humaine :

Pour la quelle l'aquaculture des *porphyra* au japon constitue un exemple particulièrement démonstratif ; L'exploitation des *spirulina* au Tchad et au Mexique mérite aussi d'être citée. (10)

I.4.2-L'alimentation de bétail : Sous forme de farine d'algues complétant la ration alimentaire normale. (10)

I.4.3-L'horticulture et l'agriculture : Cette utilisation est très ancienne puisque les riverains ont, de tout temps, récolté des algues pour s'en servir comme engrais ; on s'oriente actuellement vers la commercialisation des extraits d'algues qui peuvent être utilisées de loin de lieu de récolte, contrairement à la matière première brute, et durant toute l'année, alors que le ramassage des algues est saisonnier.(10)

I.4.4- Les extraits d'algues : La phycocolloides (substances gélifiantes fournis par les algues), qui peuvent être réparties en deux groupes correspondants aux alginates, extraits d'algues brunes, et aux substances de type agar-agar, carragheenanes, etc..., extraits des algues rouges ; quantitativement, cette exploitation représente la principale utilisation des algues.(10)

I.4.5- L'application médicale, paramédicales et pharmaceutiques :

Certaines algues figurent depuis long temps dans la pharmacopie, mais l'intérêt s'est encore accru à la suite de la découverte de substance antibiotique comme l'acide acrylique chez *phaeocystis pouchetti* et autres activités : hémostatique, cosmétologique, cardiotonique antifangique, antivirale. (10), (8)

Autre fois, la médecine populaire utilisait les algues brunes. Essentiellement en raison de leur richesse en iode et en oligo-éléments, les fucus et l'ascophylum seches sont toujours fréquemment utilisées en tisane contre l'obésité, de plus il permettraient dit-on une meilleure rétention calcium dans le squelette.(8)

Toutes les algues brunes, et en particulier l'*ascophylum nodosum*, sont des sources de vitamine C qui sont loin d'être négligeables. Et de l'acide alginique s'emploie beaucoup comme des intégrants de comprimés ou encore pour soigner les maux d'estomac (ulcères, gastrites), l'alginate s'utilise comme agent épaississant destiné à combattre les vomissements, comme agent stabilisateur et dispersant radiologique ou encore comme pansement hémostatique.(8)

Le carraghénane est utilisé aussi dans les maux d'estomac. Le *Delissaria sanguinea* possède une action anticoagulante supérieure à l'héparine. Le *diginéa simplex*, comme la mousse de crose, est un vermifuge encore apprécié de nos jours le *griffithisia corallina* contient du sulfure de méthyle efficace dans les affections pulmonaires et les bronchites.(8)

I .4.6- L'utilisation dans le lagunage :

Où la dépollution des eaux est liée à l'activité des algues qui consomment les sels nutritifs surabondants tout en ré-oxygénant le milieu.(10)

I.4 .7-L'utilisation de la biomasse des algues : Pour la production de l'énergie par exemple par méthanisation.(10)

II- antibiotique :

II.1-Définition :

Un antibiotique est une molécule produite ~~est~~ par des bactéries du sol, des champignons, des algues ou d'autres organismes vivants. Ces molécules agissent sur les bactéries sans être toxiques pour l'homme. Pour être actif un antibiotique doit :

- Pénétrer dans la bactérie cible.

- Se concentrer dans la cellule bactérienne.
- Se lier a son site d'action intra-bacterien.

Chaque antibiotique possède un mode d'action spécifique propre (inhibition de la synthèse protéique ou de la paroi bactérienne; blocage de la réplication de l'ADN ou l'ARN bactérien. . .).

Un antibiotique peut être :

- bactériostatique : Il arrête la multiplication des germes

bactéricide : Il tue les germes.(14)

II.2-Mode d'action d'antibiotique :

Les modes d'action d'un antibiotique sont schématisés dans la figure 1

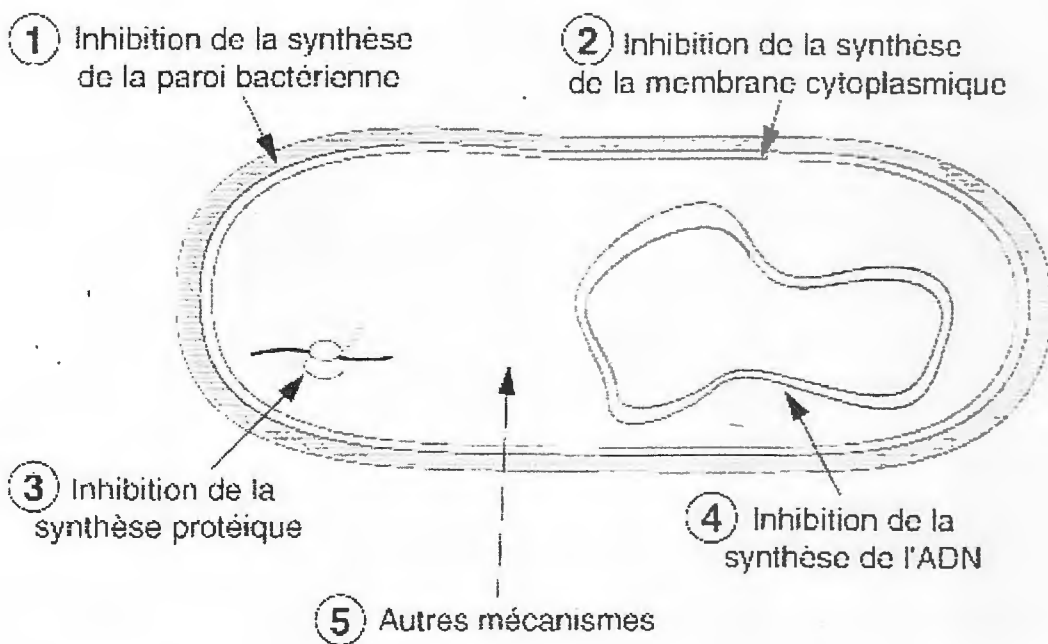


Fig 1: Les modes d'action d'un antibiotique.(13)

1 - Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi Bactérienne:

- Les β -lactamines, qui inhibent la transpeptidase intervenant dans la synthèse de la paroi.
- Les glycopeptides, qui se lient à UN intermédiaire de synthèse
- Fosfomycine, cyclosérine, bacitracine, acide fusidique, polymyxine, néomycine.

2 - Antibiotiques agissant au niveau de la membrane cytoplasmique:

- Les polymyxines
- La thyrothrycine ET substances apparentées

3 - Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique:

- Inhibiteurs de la sous-unité 50S : macrolides, lincosamides, streptogramines, phénicolés, Oxazolidinones.
- Inhibiteurs de la sous-unité 30S : tétracyclines, aminoglycosides.

4 - Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme des acides nucléiques:

- Inhibiteurs de l'ARN polymérase: ansamycines.
- Inhibiteurs de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase IV: quinolones et fluoroquinolones.
- Inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique: sulfamides, diaminopyridines.

5 - Antibiotiques agissant par inhibition compétitive (antimétabolites):

- Analogues de vitamines (sulfamides), d'acides aminés, de bases puriques... (13)

II.3-mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques: La résistance aux antibiotiques est un phénomène général observé pour toutes les espèces bactériennes rencontrées chez l'Homme et lié à leur inéluctable évolution. On assiste de surcroît à des multirésistances, c'est-à-dire au fait qu'une bactérie est résistante en même temps à plusieurs familles d'antibiotiques. On observe, depuis 5 à 6 ans, que près de 10% des cas d'otite par exemple ne peuvent être traités simplement avec la pénicilline(11). Et 90%des souches de *Staphylococcus aureus* sont résistantes à la pénicilline (4). La bactérie, peut résister à l'action de ces antibiotiques, selon 3 types d'action :

- ❖ Se rendre imperméable : Résistance par imperméabilité.
- ❖ Inactiver ou refluer l'antibiotique : Résistance enzymatique ou par efflux.
- ❖ Modifier le ou les sites d'action ou de fixation de la molécule : Résistance par défaut d'affinité. (14)

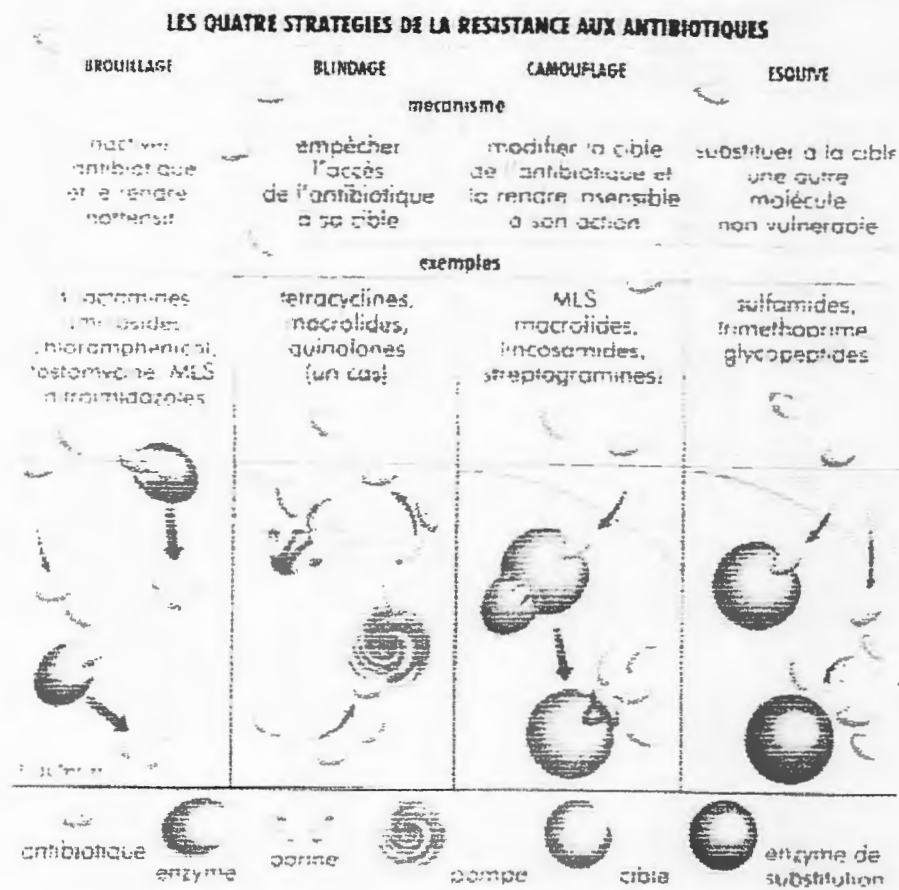


Fig 2: Mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries(12)

II.4-Etude de l'activité antibactérienne :

La sensibilité d'un micro-organisme vis-à-vis l'antibiotique est très important puisqu'il constituera l'antibiothérapie, il est plus important de connaître l'antibiotique appropriée au germe responsable pour une action plus efficace. (11)

L'antibiogramme a pour but de déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis des divers antibiotiques. Par définition (O.M.S.), la CMI est la concentration minimale d'un antibiotique capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une bactérie donnée, appréciable à l'œil nu, après une période d'incubation donnée. La détermination de cette valeur est peu précise mais elle est consacrée par l'usage et elle bénéficie d'une masse importante d'informations recueillies à son sujet.(3)

II.4.1-Méthodes de dilution : Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques.

En milieu liquide, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macro-dilution) ou de cupules (méthode de micro dilution) contenant l'antibiotique. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique et où aucune croissance n'est visible.

En milieu solide, l'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boîtes de Pétri. La surface de la gélose est ensemencée avec un inoculum des souches à étudier (un inoculateur à têtes multiples, appareil de Steers, permet d'ensemencer de 20 à 30 souches différentes par boîte). Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique.

Dans la pratique courante, les méthodes de dilution sont de mise en œuvre délicate et/ou onéreuses et elles sont réservées à des laboratoires spécialisés. (3)

II.4.2-Méthodes de diffusion : Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic. Pour mesurer les CMI, des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture. Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe.(3)

A la limite des zones d'inhibition, il existe dans la gélose des concentrations d'antibiotiques égales aux CMI. Les méthodes de diffusion ne permettent pas de chiffrer directement ces valeurs. Toutefois, il existe une relation simple entre les diamètres des zones d'inhibition et les CMI mesurées par les techniques de dilution. Ces relations, appelées droites de concordance ont été établies par des laboratoires spécialisés travaillant dans des conditions standardisées. A condition de respecter un protocole identique, ces courbes sont utilisables par un laboratoire de diagnostic. Les mesures des diamètres des zones d'inhibition et leurs reports sur les courbes de concordance donnent les valeurs des CMI en $\mu\text{g/ml}$ (3).

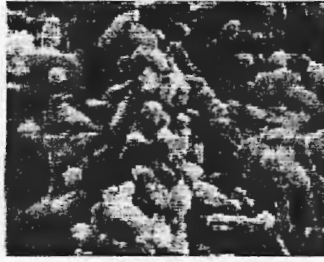
III- Bactéries :

Les bactéries sont des organismes microscopiques qui peuvent être bénéfiques à l'homme ou pathogènes ; c'est-à-dire responsables de maladies infectieuses, pour l'homme et l'animal parmi ces bactéries on cite :

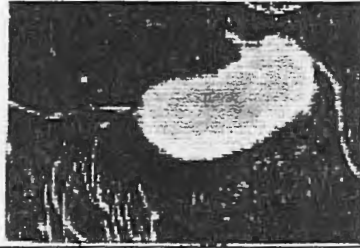
Caractères	Genre <i>Proteus</i> . (2)
Caractères Orphologie	Bâtonnet droit à extrémité arrondis, très mobile grâce à une ciliature péritriche, île sont asporules, acapsules et Gram négatif.
Caractère cultural	A.A.F, les <i>Proteus</i> cultivés facilement sur les milieux ordinaires à 37°C et à pH 7.5 avec tendance à l'alcalinisation des milieux. Les souches mobiles envahissent rapidement le milieu : sur gélose nutritive : petite colonies après incubation de 5 à 6H autour desquelles très rapidement se forme un halo qui gagne rapidement toute la surface du milieu. Cet envahissement des milieux de culture par diverses substances telles que l'alcool éthylique à 5% ou le bromocrésol pourpre à 0.025g %. Ces substances inhibent la mobilité des Grams. Sur bouillon nutritif : trouble homogène rapide avec dépôt léger voile à la surface. De plus il se dégage odeur putride et nauséabonde. Sur milieu E.M.B la colonie est grisâtre ; envahissant.
Propriétés biochimiques	Ce genre réduit les nitrate en nitrite, fermente le glucose avec production de gaz, le saccharose mais n'attaque pas le lactose ni le mannitol. Les <i>proteus</i> produisent de l'indole (suivant les espèces), de l'H ₂ S et hydrolysent tous rapidement. L'urée avec alcalinisation du milieu. Ils ne possèdent pas de lysine décarboxylase ni de B-galactosidase, la réaction de VP est (-) mais celle du rouge de méthyle est (+).
Propriétés Biologiques	La vitalité du <i>Proteus</i> est très grande aussi bien dans le milieu extérieur que dans les cultures. Ils sont sensibles à l'action de la chaleur et des antiseptiques (chlore et phénol).
Propriétés Biologiques	Ce sont des germes saprophytes des milieux extérieurs (sols, eaux). Les <i>proteus</i> sont des agents très importants de putréfaction des déchets organiques de plus ils sont responsables ces suppurations diverses (plaies infectées...)
Les malades	infection urinaire.



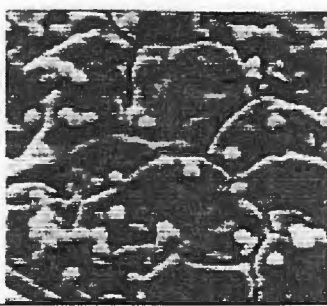
Caractère	Espèce type <i>Escherichia coli</i> . (2)
Morphologie	Bâtonnets droits asporulés, acapsulés Gram négatif, mobile par ciliature péritriche
Caractère cultural	AAF <i>E.coli</i> cultive facilement sur les milieux ordinaires à 37°C et pH 7.5. Sur bouillon nutritif, trouble homogène abondant avec ondes moirées et dépôt grisâtre parfois un léger voile en surface. Sur gélose nutritive, des colonies arrondis, humides, brillantes et de couleur blanchâtre ou légèrement jaunâtre lisse (S) ou rugueuse (R) ou par fois muqueuse (M). Sur milieu E.M.B, colonies d'un violet foncé avec éclat métallique verdâtre caractéristique. <i>E.coli</i> ne se développe pas sur milieu au citrate de sodium et sur milieu au cyanure de potassium.
Propriétés biochimiques	<i>E.coli</i> réduit les nitrates au nitrite, fermente avec production de gaz le glucose, le lactose et le mannitol, ne liquéfie pas la gélatine ni les protéines coagulées, acidifier et coagule le lait, produit de l'indole, mais ne produit pas l'H ₂ S ni de l'acétoïne, possède une galactosidase, une lysine décarboxylase pas d'uréase.
Propriétés Biologiques	Grande vitalité aussi bien dans le milieu extérieur qu'en culture. Sensibilité à l'action de la chaleur, du chlore et de ses dérivés et sont résistance à l'acide phénique en solution à 1%. Endotoxine (AgO).
Les malades	infection urinaire, gastro-entérite infantile.
Pouvoir pathogène	Hôte normal de l'intestin de l'être humain et des animaux <i>E.coli</i> peut jouer un rôle pathogène dans l'infection des voies urinaire biliaire. Certains <i>E.coli</i> provoquent une gastro-entérite infantile. Ces germes sont identiques sur le plan morphologique et biochimique aux germes banaux mais ils s'en distinguent uniquement par leurs propriétés sérologiques (9sérotypes).



Caractères	Espèce type <i>klebsiella pneumoniae</i> . (2).
Morphologie	Gram négatif, asporulés, bâtonnet court et épais à extrémités arrondies, immobiles, capsules dans les produits pathologiques.
Caractère cultural	A.A.f, <i>klebsiella pneumoniae</i> cultive bien sur les milieux ordinaires à 37°C et à pH 7.3. sur bouillon nutritif, trouble uniforme avec dépôt visqueux et anneau épais, visqueux à la surface. Sur gélose nutritive colonies volumineuses de 5mm de diamètre bombes, épaisses visqueuse opaques. Sur milieux E.M.B colonies bombes mauves avec renflent métallique au centre de colonies cultivent sur milieu au citrate de sodium et sur milieu au cyanure de potassium.
Propriétés biochimiques	<i>Klebsiella</i> fermentent le glucose, le lactose, le saccharose, le mannitol avec production de gaz, réduise ni le nitrates en nitrites, ne liquéfient la gélatine ni protéine coagulent, ne coagules pas le lait, ne produisent pas l'indole ni de l'H ₂ S mais hydrolysent l'urée. Ils produisent de l'acetoïne (VP+) mais ont une réaction de rouge de méthyle négative.
Propriétés Biologiques	La vitalité de <i>Klebsiella</i> est assez grand dans le produit pathologique et le milieu extérieur mais ils ont une tendance l'autolyse spontanée en culture. Ils possèdent une endotoxine (antigène O) mas pas d'exotoxine soluble.
Pouvoir pathogène	Hôtes saprophytes des voies aériennes supérieur et digestive de l'homme et des animaux, les <i>Klebsiella</i> sont très répondees dans le milieu extérieur. On trouve dans le sol et les eaux d'égout et dans certains aliments comme le lait et le beurre. Ils peuvent déterminees chez l'homme déverses infection selon l'espèce de <i>Klebsiella pneumoniae</i> est responsable de pneumopathie aiguë, de bronchites d'angine d'otite d'infection des voies urinaires et digestives.
Les malades	Infecion urinaire, une broncho-pneumopathie aiguë.



Caractères	Espèce type <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . (2)
Caractères Morphologie	Bâtonnet Gram négatif, droit ou légèrement incurves. Asporules, acapsules généralement mobiles par cils polaires mais aussi immobiles (section 4 de bergey's manual). Ils peuvent être pigmentés ou non. Les <i>pseudomonas</i> comprennent un très grand nombre des espèces (la plus part d'entre elle est saprophyte). <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Pseudomonas pseudomallei</i> sont pathogène pour l'homme.
Caractère cultural	Aérobies strictes, les <i>Pseudomonas</i> cultivent facilement et très rapidement sur les milieux ordinaires à 37°C et à pH 7.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> se développe à une température comprise entre 4°C et 42°C. Ce germe dégage une odeur aromatique due à la production d'un acétophénol. De puis il élabore un pigment jaune verdâtre et bleu verdâtre, soluble dans l'eau. Sur bouillon nutritif, on observe un trouble rapide abondant uniforme coloré en bleu vert ou jaune vert avec une pellicule épaisse et un sédiment abondant. Sont aussi une odeur aromatique intense. Sur gélose nutritive les colonies sont arrondies de grandes taille, sur élevées. Opaque à entrer foncé et à périphérie claire, lisse avec coloration bleu verdâtre de la gélose.
Production de pigments	Les <i>Pseudomonas</i> peuvent synthétises ou non des pigments. Produisent un pigment fluorescent. C'est le cas de <i>pseudomonas aeruginosa</i> . <i>Pseudomonas fluorescens</i> et <i>pseudomonas putida</i> . <i>Pseudomonas aeruginosa</i> produit deux pigment. Un pigment caractéristique de l'espèce : la pyocyanine de couleur bleu verdâtre. Un pigment non caractéristique de l'espèce : la pyoverdine de couleur vert fluorescent produit essentiellement par l'espèce <i>Pseudomonas fluorescens</i> et <i>pseudomonas putida</i> . La pyoverdine est soluble dans l'eau.
Les maladies	Les maladies opportunistes.



Caractères	Espèce type <i>Staphylococcus aureus</i> . (2)
Morphologie	Ce sont des cocci arrondies, non capsules, non sporules, isolés ou en courte chaînette ou, le plus souvent en grappe de raisin.
Caractères cultureux	<p>A.A.F, <i>Staphylococcus aureus</i> cultives très facilement sur tous les milieux ordinaires à la température de 37°C et à pH optimum de 7,5. une culture sur bouillon nutritive permet l'observation d'un trouble uniforme, abondant en 24h avec dépôt pulvérulent et par fois léger voile à la surface au bout de 48h une culture sur gélose nutritive permet l'observation de colonies arrondies, humides, opaques les centres crémeuses à surface lisse et à bord régulier.</p> <p>Les <i>Staphylocoques</i> cultivent sur des milieux contenant des inhibiteurs pour d'autres bactéries telle que la couleur tolloret de potassium, le cristal violet et chlorure de sodium à une concentration de 7,5 % cette propriété a été mise à profit pour synthétiser des milieux spécifiques d'isolement des <i>Staphylocoques</i> : le milieu de Chapman au cristal violet.</p>
Propriétés biologiques	La vitalité des <i>Staphylococcus</i> est très grande. Ce genre résiste au vieillissement en culture, à la dessiccation et au froid. Il est sensible à l'action de la chaleur et des antiseptiques. <i>Staphylococcus aureus</i> élabore certains nombres de substances toxiques et non toxiques dans le rôle est très important la virulence du germe.
Propriétés biochimiques	<i>Staphylococcus aureus</i> liquéfie plus ou moins la gélatine, acidifie et coagule le lait. Elle ne produit pas l'indole, ni H ₂ S. elle fermente le glucose, le galactose, le lactose, la manose, le saccharose, le glycérol et le manitol sans production de gaz elle possède une catalase, une lipase, une lécithinase et une phosphatase.
Les maladies	Infection urinaire, endophtalmie.

PARTIE
PRATIQUE

L'emploi des algues en médecine est beaucoup plus au moins ancien que leur usage alimentaire et le nombre de variétés utilisées beaucoup plus restreint, mais l'intérêt croissant qu'elle suscitent de puis quelques années dans le monde scientifique débouchera certainement bientôt sur des nouvelles découvertes qui viendront enrichir notre arsenal thérapeutique.

Dans notre étude ; nous avons réalisé un travail sur des algues fraîches a fin de rechercher une activité antibactérienne.

Les algues ont été récoltées par la ligue de sauvetage secourisme et des activités subaquatiques de la wilaya de JIJEL (L.S.S.AS) en mois d'avril 2002 .

Les souches bactériennes ont été isolées par l'équipe de laboratoire d'hygiène de JIJEL et l'équipe de laboratoire de TAHIR.

La confirmation des souches bactériennes a été réalisée par l'équipe de TAHIR. Notre travail a été réalisé entre la période avril jusqu'à fin juin.

La recherche de l'activité antibactérienne a été réalisée sur des algues fraîches traitées par différents solvants et à partir d'un mélange d'extraits d'algues.

I-Materiel et methodes :

I.1-Materiel :

- Mortier
- L'étuve (memmert)
- Papier filtre
- Papier wathman.
- Papier cellophane.
- Récipient.
- Flacons de 250 ml
- Balance.
- Pipette de pasteur.
- Lance de platine.
- Bec benzène.
- Pipette graduée.
- Pincés.
- Spatules.
- Tube à essais stériles.
- Disques d'antibiotiques (commercialisé de l'institut pasteur).
- Bain-marie.
- Loupe.

I.2-Solvants et milieux de cultures :

- Eau de javel (12%).
- Eau distillée.
- Bouillon nutritif. (Commercialisé de l'institut pasteur).

²-Gélose nutritive (commercialisée de l'institut Pasteur).

-Ethanol (100%).

-Méthanol (96%).

-Benzène (100%).

-Chloroforme (100%).

II- Préparation de l'extrait brut des algues étudiés : Les algues qui ont été recueillies par l'équipe de l'Agence de sauvetage secourisme et des activités subaquatiques de la wilaya de JIJEL (L.S.S.AS). Sont acheminées au laboratoire de microbiologie de l'institut de JIJEL.

-Les algues sont séparées en vertes, rouges, et brunes, puis lavées à l'eau distillée et écrasées devant le bec benzène dans des récipients.

- Des échantillons sont gardés pour l'identification des espèces.
- 50g de chaque espèce d'algues sont mélangés avec 100ml de méthanol.
- 50g de chaque espèce d'algues sont mélangés avec 100ml d'éthanol.
- 50g de chaque espèce d'algues sont mélangés avec 100ml de benzène.
- 50g de chaque espèce d'algues sont mélangés avec 100ml de chloroforme.
- Puis on fait la filtration des solutions obtenues et on passe à l'évaporation à l'autoclave à 55°C.
- Les quantités des extraits alguaux qu'on a obtenus dans le tableau II :

Tableau II : Les quantités en (g) des extraits d'algues fraîches obtenues après l'évaporation :

Algues Solvants	Algue brune (g)	Algue rouge(g)	Algue verte(g)
Chloroforme(ml)	1.35	1.35	0.25
Benzène(ml)	0.65	1.45	1.5
Ethanol(ml)	0.25	1.85	2.1
Méthanol(ml)	0.5	0.75	1.01

- On fait la dilution d'extrait brut (1g de l'extrait dans 10ml de l'eau distiller).

Tableau III résume les volumes en ml d'eau distillée ajoutée à chaque extrait :

Algues(g) Solvants(ml)	Algues brunes	Algues vertes	Algues rouges
Chloroforme	13.5	2.5	13.5
Benzène	6.5	15	14.5
Ethanol	2.5	21	18.5
Méthanol	5	10.5	7.5

III-Souches bactériennes : Les souches bactériennes ont été isolées et identifiées par l'équipe de laboratoire d'hygiène et l'équipe de laboratoire de TAHIR et confirmé par ce dernier.

III.1-Isolement et identification :

III.1.1-*Escherichia coli* :

III.1.1.1-Coloration de Gram : Gram négatif.

III.1.1.2-Isolement : Le milieu gélose nutritif, et le milieu BCP.

III.1.1.3-Identification : Est réalisée par les tests biochimiques suivants :

RM	Uréase	Indol	Glucose	lactose	Sacchrose	Co2	H2S	Citrate	OX	ONPG
+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+

+ : test positif.

- : test négatif.

III.1.2- *Klebsiella pneumoniae*

III.1.2.1-Coloration de Gram : Gram négatif.

III.1.2.2-Isolement : Le milieu gélose nutritif, et le milieu BCP.

III.1.2.3-Identification : Est réalisée par les tests biochimiques suivants

Lactose	ONPG	LDC	Indol	Malonat	uréase	Glucose	Saccharose	Gaz	mobilité	RM	Vp
+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+

+ : test positif.

- : test négatif.

III.1.3- *Pseudomonas aeruginosa* :

III.1.3.1-Coloration de Gram : Gram négatif.

III.1.3.2-Isolement : Le milieu gélose nutritif.

III.1.3.3-Identification : Est réalisée par les testes biochimique suivants :

Glucose	Lactose	Saccharose	Mobilité	Uréase	Citrate	VP	Indol	RM
±	±	-	+	+	+	-	-	+

+ : test positif.

- : test négatif.

III.1.4-*Proteus*

III.1.4.1-Coloration de Gram : Gram négatif.

III.1.4.2-Isolement : Le milieu gélose nutritif. Et le milieu BCP.

III.1.4.3-Identification : Est réalisée par les testes biochimique suivants :

ONPG	H ₂ S	Indol	ODC	Manitol	Mobilité	Glucose	Lactose
-	+	-	+	+	+	+	-

+ : test positif.

- : test négatif.

III.1.5-*Staphylococcus aureus* :

III.1.5.1-Coloration de Gram : Gram positif.

III.1.5.2-Isolement : Le milieu Chapman.

III.1.5.3-Identification : Est réalisée par les tests biochimiques suivants

Manitol	Coagulase
+	+

+ : test positif.

- : test négatif.

III.2- Préparation de culture jeunes :

-Les souches bactériennes sont réinoculées dans les bouillons nutritifs puis incubées à 37°C pendant 24h.

-On prend une goutte de chaque bouillon, dans 10ml d'eau. Ces dilutions vont servir à l'ensemencement des souches bactériennes étudiées.

IV-Étude de l'activité antibactérienne des extraits d'algues marines fraîches traités par différents solvants :

IV.1- Méthode de dilution :

- On fait fondre la gélose nutritive dans le bain-marie.

- Dans une zone stérile près de bec benzène, on coule la gélose dans les boîtes de petri.

- On ajoute 2ml de l'extrait à l'aide d'une pipette graduée stérile, on remue la boîte de façon à voir une gélose homogène.

-on laisse refroidir, puis on ensemence en stries dans chaque boîte de petri les six souches suivantes : *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase(-)*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Un témoin est réalisé sur une boîte de petri coule par la gélose.

-On l'incube à 37°C pendant 48h.

IV.2- Test de diffusion :

- ON utilise du papier wattman découpé en disques de 6mm de diamètre.

- Les disques sont imprégnés avec les différents extraits d'algues à l'aide de la pipette pasteur et qu'on laisse sécher à température ambiante près de bec benzène.
- On coule la gélose dans les boites de petri.
- ON laisse refroidir près du bec benzène.
- A partir des bouillons nutritifs, on place une goutte de chaque culture jeune dans 10ml d'eau distille et ensemance les boites de petri prelabement préparées à l'aide d'une pipette pasteur avec la méthode d'étalement en râteau.
- Par un marqueur on divise la boite en 4 parties.
- On dépose 4 disques, imprégné par un extrait de même algue traités avec les 4 solvants, sur la gélose.
- Les boites incube à l'étuve à 37°C pendant 48h.

V-Etude de l'activité antibacterienne à partir du mélange des différents extraits :

- On mélange les extraits des différent solvants pour chaque algue.
- l'activite antibacterienne du melange d'extrait est étudiée par la methode de dillution et de diffusion sur milieu solide.

V.1-Test de dilution :

- Prés de bec benzène, on ajoute 2ml de mélange d'extrait dans les boite de Petri qui contenant la gélose fondue.
- On laisse refroidir, puis on ensemence en striés chaque boite par les six souches bacterienne.
- On incube à 37°C pendant 48h.

V.2- Test de diffusion :

- On prépare des disques imprégnés avec le mélange d'extrait.
- On coule la gélose sur les boites de Petri. On ensemence chaque boite par une souche bactérienne à l'aide de pipette pasteur avec la méthode d'étalement en râteau.
- Par le marqueur on divise la boite en trois parties, chaque partie contient un disque imprégné du mélange d'extrait d'une même algue.

- On incube à l'étuve à 37°C pendant 48 H.

Résultats

VI- l'étude de l'activité antibactériennes d'algues traitées par différents solvants :

VI.1-Algue verte : *Ulva lactuca*

VI.1.1- Teste de dilution :

les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne, par le test de dilution, d'extraits d'algue verte obtenu par différents solvants sont résumés le tableau IV :

Tableau IV: Etude de l'activité antibactérienne des extraits d'algue verte obtenu par plusieurs solvants par le test de dilution :

Solvants	Témoins	Chloroforme	Éthanol	Méthanol	Benzene
Bactéries					
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	-	+
<i>Proteus</i>	+	+	+	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-	+
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	+	+	+	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	-	+
<i>Staphylococcus coagulase(-)</i>	+	+	+	-	+

(+) : présence de la croissance bactérienne.

(-) : Absence de la croissance bactérienne.

On remarque que l'extrait brut d'algue verte obtenu avec le méthanol inhibe la croissance des six souches.

VI.1.2- test de diffusion :

les resultats de l'étude de l'activité antibacterienne, par le test de diffusion, d'extraits d'algue verte obtenu par differents solvants sont résumés dans le tableau V :

Tableau V : l'activité de l'extrait d'algues verte fraîche obtenu par le test de diffusion :

Solvants Bactéries	Chloroforme	Ethanol	Méthanol	Benzène
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<i>Proteus</i>	-	-	11mm	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10mm	-	9mm	-
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	-	6mm	7mm	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-
<i>Staphylococcus coagulase(-)</i>	-	-	-	-

(+) : présence de la croissance bactérienne.

(-): Absence de la croissance bactérienne.

L'extrait d'algue verte fraîche obtenu avec le chloroforme, l'éthanol, et le méthanol presente une activité antibacterienne.

VI.2-Algue rouge : *Chondrus crispus*

VI.2.1- test de dilution :

les resultats de l'étude de l'activité antibacterienne, par le test de dilution, d'extrait d'algue rouge obtenu par differents solvants sont résumés dans le tableau VI :

Tableau VI : Etude de l'activité antibactérienne des extraits d'algue rouge obtenus par plusieurs solvants par le test de dilution :

Solvants Bactéries	Témoins	Chloroforme	Ethanol	Méthanol	Benzène
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	-	+
<i>Proteus</i>	+	+	+	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-	+
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	+	+	+	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	-	-	+
<i>Staphylococcus coagulase(-)</i>	+	+	-	-	+

(+) : présence de la croissance bactérienne.

(-): Absence de la croissance bactérienne.

On remarque quel'extrait brut d'algue rouge obtenu avec le méthanol inhibe la croissance des six souches, et que l'extrait brut d'algue rouge obtenu avec l'éthanol inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase(-)*

VL.2.2- teste de diffusion :

les resultats de l'étude de l'activité antibacterienne, par le test de diffusion, d'extraits d'algue rouge obtenus par differents solvants sont résumés dans le tableau VII :

Tableau VII : l'activité de l'extrait d'algue rouge fraîche obtenue par le test de diffusion :

Solvants	Chloroforme	Éthanol	Méthanol	Benzène
Bactéries				
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<i>Proteus</i>	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	8mm
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-
<i>Staphylococcus coagulase(-)</i>	-	-	-	-

(+) : présence de la croissance bactérienne.

(-): Absence de la croissance bactérienne.

Seul les extraits d'algue rouge fraîche obtenus avec le benzène qui présentent une activité antibactérienne sur *Klebsiella pneumoniae* avec un diamètre de 8mm.

VI.3-Algue brune : *Aschophyllum nodosum*

VI.3.1- test de dilution :

les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne, par le test de dilution, d'extraits d'algue brune obtenus par différents solvants sont résumés dans le tableau VIII :

Tableau VIII : Etude de l'activité antibactérienne des extraits d'algue brune obtenus par plusieurs solvants par le test de dilution :

Solvants Bactéries	Témoins	Chloroforme	Ethanol	Méthanol	Benzène
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+
<i>Proteus</i>	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus coagulase(-)</i>	+	+	-	+	+

(+) : présence de la croissance bactérienne.

(-) : absence de la croissance bactérienne.

L'extrait brut d'algue brune obtenu avec l'éthanol inhibe la croissance *Staphylococcus coagulase(-)*

VI.3.2- test de diffusion :

les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne, par le test de diffusion, d'extraits d'algue brune obtenu par différents solvants sont résumés dans le tableau IX :

Tableau IX: l'activité de l'extrait d'algue brune fraîche obtenues par le test de diffusion :

Solvants Bactéries	Chloroforme	Éthanol	Méthanol	Benzène
<i>Escherishia coli</i>	-	-	-	-
<i>Proteus</i>	6mm	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas Aerugenosa</i>	6mm	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-
<i>Staphylococcus coagulase(-)</i>	-	10mm	-	-

(+) : présence de la croissance bactérienne.

(-) : Absence de la croissance bactérienne.

L'extrait d'algue brune fraîche obtenu avec le chloroforme, et l'éthanol présente une activité antibactérienne.

TABLEAU VV LES RESULTATS OBTENUS DE TESTE DE DIFUSION DES DIFERENT ANTIBIOTIQUES

Antibiotique	NI	GM	AM	CZ	SXT	CS	CM
Bacteries							
<i>Escherichia .coli</i>	16 mm	16 mm	17 mm	15 mm	22 mm	15 mm	20 mm
<i>Proteus</i>	25 mm	30 mm	-	-	-	25 mm	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20 mm	16 mm	-	5 mm	15 mm	13 mm	5 mm
Antibiotique	VA	AM	E	PI	FOX	RA	OX1
Bacteries							
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15 mm	6 mm	-	16 mm	26 mm	15 mm	10mm
<i>Staphylococcus coagulase(-)</i>	15 mm	7 mm	26 mm	30 mm	24 mm	30 mm	-
<i>Staphylococcus aureus.</i>	14mm	23 mm	22 mm	24 mm	25 mm	27 mm	-

L'antibiotique :

AM : Ampiciline.

FOX : Céfoxitine.

OX : Oxacillne

CZ :Cefazoline

CS :Colistine.

NI :Nitroxoline.

CM :Clindamycine.

E :Ergthromycine.

PI :Acide pipémétique.

RA :Rifampicine.

SXT : Triméthoprine+Sulfamides.

GM :Gentamicine.

VA :Vancomycine.

Discussion :

Des travaux antérieurs de l'activité antibactérienne des substances algales avec l'utilisation d'un seul solvant ont montré que le benzène et l'éthanol étaient des bons candidats pour extraire les substances antibiotiques et le chloroforme présentait une activité antibactérienne faible avec des algues sèches.(9)

Notre étude sur l'activité antibactérienne d'extrait d'algue traitée par différents solvants a montré qu'il y a une activité antibactérienne de l'algue verte traitée par le méthanol sur les six souches bactériennes étudiées par le test de dilution.

Dans le test de diffusion on note une activité de l'extrait d'algue verte fraîche obtenu avec le chloroforme sur *klebsiella pneumonea* avec un diamètre respectif de 10mm, ce diamètre est meilleur que le diamètre obtenu avec Cefazoline (5mm) et Clindamycine (5mm).

Il y a aussi une activité de l'extrait d'algue verte obtenu avec l'éthanol sur *pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de 6mm qui est le même que celui obtenu avec la Gentamycine.

L'extrait d'algue verte obtenu avec le méthanol sur *proteus* donne un diamètre moyen par rapport aux antibiotiques étudiés, et avec *klebsiella pneumonea* avec un diamètre de 9mm qui est meilleur que celui observé avec la Cefazoline et Clindamycine (5mm) et aussi sur *pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre meilleur que celui observé avec la Gentamycine(7mm).

À partir des résultats obtenus par les deux tests on constate que l'extrait d'algue verte fraîche obtenu avec le méthanol présente l'activité antibactérienne la plus intéressante que les autres solvants.

L'extrait brut de l'algue brune fraîche obtenu par le chloroforme présente un meilleur résultat sur *proteus* par rapport aux autres solvants avec un diamètre de 6mm qui est négligeable par rapport aux résultats de l'antibiogramme, et sur *pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de 6mm qui est le même que celui de la Gentamycine.

Pour l'éthanol la zone d'inhibition de *Staphylococcus coagulase (-)* est de 10mm de diamètre qui est supérieure au diamètre de Gentamycine (7mm), les autres extraits de l'algue : brune fraîche obtenus avec le méthanol et le benzène ne présentent aucune activité antibactérienne.

Les extraits d'algue brune fraîche obtenus avec l'éthanol n'inhibent que la croissance de la *Staphylococcus coagulase (-)*, dans le test de dilution par contre les extraits obtenus avec les

autres solvants (méthanol, chloroforme, et le benzène) ne présentent aucune activité antibactérienne sur les six souches testées.

L'extrait de l'algue brune fraîche obtenu avec l'éthanol inhibe la croissance de *Staphylococcus coagulase (-)* par les deux tests.

L'extrait brut de l'algue rouge avec l'éthanol inhibe la croissance des six souches bactériennes, mais l'extrait obtenu avec l'éthanol n'inhibe que la croissance de *staphylococcus aureus* et *staphylococcus coagulase (-)*, les extraits obtenus avec le chloroforme et le benzène ne présentent aucune activité remarquable sur les six souches dans le test de dilution. Seul les extraits de l'algue rouge fraîche obtenus avec le benzène qui présentent une activité antibactérienne sur *Klebsiella pneumoniae* avec un diamètre de 8mm qui est plus élevé que le diamètre observé avec la Cefazoline et Clindamycine (5mm de diamètre).

Les extraits d'algue fraîche verte et rouge obtenus avec le méthanol présentent les meilleurs résultats par rapport aux autres extraits, et on note que *Staphylococcus coagulase (-)* est plus sensible par rapport aux souches bactériennes vis-à-vis des extraits d'algue verte obtenus avec le méthanol, l'extrait d'algue rouge obtenu avec l'éthanol et le méthanol et d'algue brune obtenue avec l'éthanol.

Les résultats obtenus avec le mélange des extraits ne présentent aucune activité antibactérienne vis-à-vis des six souches étudiées.

D'après la littérature l'activité antibactérienne des algues et en fonction des variations saisonnières (5), des techniques d'étude des solvants utilisés, et la composition d'algue.

CONCLUSION :

Si les principes actifs des extraits d'algues utilisés en pharmacie sont peu nombreux, les travaux scientifiques en cours sont importantes. Ils ont pour objet la recherche de nouvelles molécules actives ou de modèles moléculaires pour la chimie de synthèse. Des milliers de molécules ont été aussi identifiées. Ce sont des polysaccharides, des lipides ou encore petites métabolites de nature phénolique, terpénique ou acrylique. Les activités décrites sont très diverses : activité anticoagulante, antibactérienne, antitumorale et antivirale(9). l'activité antibactérienne suscite l'intérêt de plusieurs chercheurs et des travaux ont révélés qu'elle est liée à certaines lipides ou a des composés halogènes en particulier des Bromo phénols, des terpénoides et des composés acétyléniques selon l'espèce algal.(7)(9)

Notre étude, constitue un travail simple et préliminaire, limité par certaines contraintes techniques. Néanmoins, elle montre qu'il existe une activité antibactérienne, plus au moins intéressante a partir des algues isolées bien représentées sur notre littoral ; ce qui offre peut être des perspectives d'utilisation en médecine dans notre pays.

Par ailleurs, le développement de nouvelles molécules thérapeutiques, voir antibiotiques, d'origine algal nécessitera la mise en oeuvre d'autre études beaucoup plus approfondis, notamment la purification des molécules impliquées dans les activités observées et l'établissement de relations claires « structure - fonction ».

BIBLIOGRAPHIE

- 1/ ANNING TOULEMENT.CLAUDE RIVES.(1982).Sous lamer (faune et flore).Hatier,Paris.29-37
 - 2/ BOURGOIS.C.M, LARPENTJ. P.(1998). Microbiologie alimentaire. Tec et doc lavoisier.
 - 3/ EZEBY.JP .(2001). Dicsionaire vétérinaire de la bacteriologie.5,7
 - 4/LEHIR M. OLLEN T. RIMIOT B. BOUR LIOUX P.(1991).Phénotype de résistance au antibiotique de Staphylococcus spcies et Eschrichia coli isolées dans le centre hopitalier spécialisé.21 ;7-11
 - 5/ LOUIS MORZC. JOHN STIDWORTHY.(1990).Plantes et graines. Edition Gamma.7-8
 - 6/ SASTRYV.M.V.S.,RAO G.R.K.(1994).Antibacterial substances from marine algae :successive extraction using benzene,chloroforme and methanol. Botanica marina,37.357-360.
 - 7/ TARIO.S.V.N. (1991).Antifungal activity in crude extracts.Mycol.res.,(95),12,1433-1440.
- Site internet :
- 8/ <http://www.geocites.com>
 - 9/ <http://www.docteur-nature.com>
 - 10/<http://www.yahoo-encyclopedia.com>
 - 11/<http://www.resistance-antibiotique.com>

 - 12/<http://www.unige.ch>

 - 13/<http://www.123bio.net>

 - 14/<http://www.infectiologie.com>

ANNEXE

Milieu de Gelose Nutritive :

-Macerration de viande	12g
-Peptone tryptique	15g
-Nacl ou Kcl	05g
-Agar	15à20g
-PH	6.8à7
-Stérilisation	120° c/15mn

-Milieu de chapman

-peptone de viande	10.0g
-Extrait de viande	1.0
-Sodium chlorure	75.0g
-D(-) mannitole	10.0g
-Rouge de phénol	0.025g
-Agar-Agar	12.0g
-Eau distillé	1000ml
-PH final	7.4±0.1

-Bouillon nutritif :

Extrait de viande	5g
Peptone pancréatique	10g
Chlore de sodium	10g/l

-Muller Hinton

-Infusion de viande bœuf	300g
-Hydrolysate de caseienes	75g
-Amidon	1.5g
-Gélose	10g

-BCP : Gelose Bromocresol pourpre

-Extrait de viande de bœuf	3g
-Biopolytone	5g/l
-Loctose	10g/l
-Bromo-cresol pourpre	2.025
-PH	6.8

ملخص

الهدف من دراستنا هو استعراض مستخلصات نقية لثلاثة طحالب لكي نختبر قدرتها الضد بكتيرية على ستة عينات بكتيرية ممرضة.

ولهذا حضرت مستخلصات من الاليتانول والميتانول والبانزان والكلوروفوم، وجريت على عينات غير جافة:

طحالب خضراء *Ulva lactuca* ، طحالب حمراء *Ascophyllum nodosum*، وطحالب بنية *Chondrus crispus*.
دراسة النشاط قد حقق بواسطة طريقة التخفيف والانتشار.

والنتائج المتحصل عليها تين أن الميتانول هو وسيط جيد لاستخلاص المضادات الحيوية ابتداء من الطحالب غير الجافة،

وأن (-) *staphylococcus coagulase* هي اليكتيريا الأكثر حساسية لهذه المستخلصات.

إستخدام الخليط لأربع مستخلصات لا تنشط الميكروبات المختبرة.

كلمات المفاتيح: طحالب، استخلاص، محلول، مضاد حيوي.

Résumé :

L'objectif de notre étude était de passer en revue des extraits brutes de 3 algues pour tester leur activité antibiotique à l'encontre de six souches bactériennes potentiellement pathogènes pour l'homme. Pour cela, des extractions à l'éthanol, méthanol, benzène et chloroforme ont été effectuées sur des échantillons frais de *Ulva lactuca* (algue verte), *Ascophyllum nodosum* (algue rouge), et *Chondrus crispus* (algue brune).

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion et la méthode de dilution.

Les résultats obtenus montrent que le méthanol était un bon candidat pour extraire des substances antibiotiques à partir des algues fraîches et que le *Staphylococcus coagulans*(-) est le germe le plus sensible vis-à-vis de ces extraits alguaux.

L'emploi de mélanges d'extraits est sans effet inhibiteur sur les souches testées.

Mots clefs : Algues, extraction, solvants, antibiotique.

Summary

The objective of our survey was to review for

To test their antibiotic activity to the encounter of six stumps bactériennes potentially pathogenic for the man for it of extractions to the ethanol, methanol, benzene and chloroform has been done on the collection of *Ulva lactuca* (green alga), *Ascophyllum nodosum* (red algae), and *Chondrus crispus* (brown algae).

The survey of the antibacterial activity has been achieved by the method of diffusion and the

Method of dilution.

Results show that the methanol was a good candidate to extract the substances antibiotic from the algae and that *Staphylococcus coagulans* (-) is the most appreciable germ opposite these extracts.

The use of these extracts mixture is without inhibitory effect on test strains.

Keywords: Algae, extraction, solvents, antibiotic.