

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Ghardaia**



**Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre**

**Département de Biologie**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**Filière : Science biologiques**

**Spécialité : Microbiologie appliquée**

**Par : - CHOUACHE Djihane**

**- HABA AINA Mouna**

**Thème**

**Etude de l'activité antimicrobienne des extraits  
d'une algue marine**

**Soutenu publiquement le 13/06/2023, devant le jury composé de :**

|                  |                         |                |                      |
|------------------|-------------------------|----------------|----------------------|
| Mme KEBILI Zohra | Maitre Assistant A      | Univ. Ghardaia | Président            |
| Mme MAIDI Leila  | Maitre Assistant A      | Univ. Ghardaia | Directeur de mémoire |
| Mr BELGHIT Said  | Maitre de conférences A | Univ. Ghardaia | Examineur 1          |

**Année universitaire : 2022 / 2023**



# *Remerciement*

Avant tous, nous remercions Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la patience d'élaborer notre projet de fin d'étude.

Nos remerciements les plus précieux vont à notre promoteur madame MAIDI Leila, Maitre assistant A à l'université de Ghardaïa pour son encadrement exceptionnel, sa générosité, son encouragement, sa patience et sa disponibilité tous au long de notre préparation de ce mémoire. Que dieu vous garde.

Nous tenons à remercier madame KEBILI Zohra, Maitre assistant A à l'université de Ghardaïa Pour l'honneur qu'elle nous a fait, en acceptant la présidence de ce jury.

Nos vifs remerciements vont au jury, Mr BELGHIT Said, Maitre de conférences A pour l'honneur qu'ils nous font de siéger à notre soutenance, de lire ce manuscrit et d'évaluer ce modeste travail.

Nous exprimons nos sincères remerciements à tous nos enseignants de département de biologie et particulièrement nos enseignants de spécialité microbiologie appliquée.

Nos grands remerciements vont à Mr Moulai Ali le responsable des laboratoires et à tous les personnels de laboratoires biochimie et mycologie et microbiologie, pour leur accueil.

Nous souhaitons d'adresser nos profonds remerciements à chaque personne qui a contribué de près ou de loin et qui a participé au bon déroulement de notre projet de fin d'étude dans les meilleures conditions. En particulier le chef de département de biologie et tous les personnels administratifs.

Merci énormément. Que Dieu vous bénisse.

# *Dédicace*

Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail

A ma chère mère,

A mon cher père,

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

A mes chères sœurs Chaima, Nouha, Riham

A toute ma famille

A ma chère amie Mouna

Pour leurs indéfectible soutiens, leurs patiences infinies.

**Djihane**

Je dédie ce travail à ma précieuse famille...

A mes chers parents pour leur soutien moral et qui m'ont toujours encouragé à poursuivre mes études et à obtenir de nouveaux succès.

A mes chers frères Smail, Toufik et Amine

A mes chères sœurs Latifa et Aziza

A mes chères belles-sœurs

Sans oublier mes petits neveux Moncef, lyad et Taha

Et à ma chère amie et collègue Djihane

Pour leur soutien et leurs encouragements permanents.

**Mouna**

A nos collègues de promotion 2021-2022 de microbiologie appliquée, en particulier la précieuse Wissam.

## Liste des abréviations

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| <b>%</b>                           | Pourcentage                                 |
| <b>°C</b>                          | Degré Celsius                               |
| <b>µl</b>                          | Microlitre                                  |
| <b>ADN</b>                         | Acide Désoxyribose Nucléique                |
| <b>ATCC</b>                        | American Type Culture Collection            |
| <b>CLSI</b>                        | Clinical and Laboratory Standards Institute |
| <b>cm</b>                          | centimètre                                  |
| <b>CMI</b>                         | Concentration Minimale Inhibitrice          |
| <b>DM</b>                          | Dichlorométhane                             |
| <b>DMSO</b>                        | Diméthylsulfoxyde                           |
| <b>FeCl<sub>3</sub></b>            | Chlorure ferrique                           |
| <b>g</b>                           | gramme                                      |
| <b>GN</b>                          | Gélose Nutritif                             |
| <b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> | Acide sulfurique                            |
| <b>HCl</b>                         | Chlorure d'hydrogène                        |
| <b>HCl 2 N</b>                     | Chlorure d'hydrogène 2 mol/l                |
| <b>m</b>                           | mètre                                       |
| <b>MeOH</b>                        | Méthanol                                    |
| <b>mg</b>                          | milligramme                                 |
| <b>MHA</b>                         | Mueller Hinton Agar                         |
| <b>min</b>                         | minute                                      |
| <b>ml</b>                          | millilitre                                  |
| <b>mm</b>                          | millimètre                                  |
| <b>MRSA</b>                        | Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus |

|                                |                                     |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| <b>MT</b>                      | Méthanol                            |
| <b>NaOH</b>                    | Hydroxyde de sodium                 |
| <b>NF-<math>\kappa</math>B</b> | Nuclear Factor kappa B              |
| <b>NRRL</b>                    | Northern Region Research Laboratory |
| <b>OMS</b>                     | Organisation Mondiale de Santé      |
| <b>OTA</b>                     | Ochratoxine A                       |
| <b>PDA</b>                     | Potato Dextrose Agar                |
| <b>T</b>                       | Température                         |
| <b>tpm</b>                     | tour par minute                     |

## ملخص

في الآونة الأخيرة، أثارت المواد الطبيعية و المركبات النشطة بيولوجيا اهتماما كبيرا كبدائل للمنتجات الإصطناعية.

تنتج الطحالب البحرية و بالأخص الطحالب الحمراء مجموعة واسعة من المواد الأيضية (البوليفينولات، الفلافونويدات، الكاروتينويدات...) و التي تعتبر موادا نشطة جدا مترافقة مع مجموعة واسعة من الأنشطة البيولوجية (مضادة للبكتيريا، مضادة للفطريات، مضادة للأكسدة...).

هذه الدراسة تهدف إلى تحديد و تقييم النشاط المضاد للميكروبات الخاص بمستخلصات الطحلب الأحمر *Asparagopsis armata* ضد سلالات ميكروبية ممرضة.

قمنا بإستخلاص مكونات الطحلب بنقعه في أربعة محاليل méthanol, Dichlorométhane, hexane, acétone كان المرود من مستخلص الميثانول هو الأعلى. كشف الفحص الكيميائي النباتي لمستخلصي méthanol و Dichlorométhane عن وجود العديد من المواد الأيضية الثانوية مثل البوليفينولات، الفلافونويدات، التربينويدات و الكاروتينويدات. تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات لهذين المستخلصين بتركيزات مختلفة.

تم إختبار النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص الميثانول و dichlorométhane بإستعمال طريقة الإنتشار من الأقراص ضد خمس سلالات بكتيرية, 3 منها موجبة الغرام ( *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria* *Escherichia coli* ) و إثنين سالبة الغرام ( *Staphylococcus aureus* 639c, *monocytogenes* ATCC 1393 *Pseudomonas aeruginosa* ). تم إجراء اختبار للمضادات الحيوية باعتبارهم كشهود إيجابية.

مستخلص Dichlorométhane كان الأكثر فعالية مع تثبيط تراوح بين  $9 \pm 0$  مم و  $26 \pm 0$  مم. البكتيريا *L. monocytogenes* كانت الأكثر حساسية للمستخلصين بتركيزات مختلفة. البكتيريا كانوا حساسين لبعض المضادات الحيوية المختبرة.

لتقييم النشاط المضاد للفطريات, إستعملت طريقة التماس المباشر ضد أربعة فطريات ( *Aspergillus carbonarius* M 333 *Aspergillus flavus* NRRL 3251, *Aspergillus ochraceus* ATCC 3174, *Penicillium glabrum* ). تم إجراء اختبار إيجابي بإستعمال مضاد الفطريات Nystatine.

أظهرت النتائج نشاطا مضادا للفطريات, و لكن الأكثر فعالية كان مستخلص الميثانول و الذي وصلت نسبة تثبيطه حتى 100% للفطريات (*P. glabrum*, *A. carbonarius*). الـ Nystatine تثبط نمو الفطريات بصفة كاملة.

**الكلمات المفتاحية :** *Asparagopsis armata*, مضاد للبكتيريا، مضاد للفطريات، تثبيط، مواد أليضية ثانوية، مستخلص.

# Résumé

Récemment, les substances naturelles et les composés bioactifs ont suscité un grand intérêt en tant qu'alternatives aux produits synthétiques.

Les algues marines notamment les algues rouges produisent une grande variété des métabolites (polyphénols, flavonoïdes, caroténoïdes...) considérés comme composés bioactifs dotés d'un large spectre d'activités biologiques (antibactérienne, antifongique, antioxydant...).

Cette étude vise à évaluer et déterminer le pouvoir antimicrobienne des extraits de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* vis-à-vis des souches microbiennes pathogène.

La méthode d'extraction utilisée est la macération dans quatre solvants : Méthanol, dichlorométhane, hexane et acétone. Le rendement d'extrait de méthanol a été le meilleur. Le criblage phytochimique des deux extraits de méthanol et dichlorométhane a mis en évidence la présence de plusieurs métabolites secondaires comme les phénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les caroténoïdes. Le test antibactérien des extraits des extraits de méthanol et dichlorométhane a été réalisé par la méthode de diffusion par disques vis-à-vis cinq souches bactérienne : trois Gram positive (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 et *Staphylococcus aureus* 639c) et deux Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). Des antibiogrammes considérés comme témoins positives ont été réalisés.

L'extrait de dichlorométhane a présenté le meilleur effet antibactérien avec des diamètres d'inhibition varie entre  $9\pm 0$  mm et  $26\pm 0$  mm. La bactérie *L. monocytogenes* est la plus sensible aux deux extraits à différentes concentrations. Les souches ont été sensibles aux certains antibiotiques testés.

La méthode de contact direct a été suivie pour l'évaluation de pouvoir antifongique des extraits sur les quatre souches : *Aspergillus carbonarius* M 333, *Aspergillus flavus* NRRL 3251, *Aspergillus ochraceus* ATCC 3174, *Penicillium glabrum*. Des témoins positives ont été réalisés par l'antifongique Nystatine.

Les résultats ont montré une activité antifongique plus remarquable chez l'extrait méthanolique avec des taux d'inhibition arrive jusqu'à 100% chez *A. carbonarius* et *P. glabrum*. Le Nystatine a inhibé totalement la croissance de tous les champignons.

**Mots clés :** *Asparagopsis armata*, antifongique, antibactérienne, inhibition, métabolites secondaires, extrait.

# Abstract

Recently, there has been a great deal of interest in natural substances and bioactive compounds as alternatives to synthetic products.

Seaweeds particularly red algae produce a wide variety of metabolites (polyphenols, flavonoids, carotenoids...). Considered to be active compounds with a broad spectrum of biological activities (antifungal, antibacterial, antioxidant...).

The aim of this study was to assess and determine the antimicrobial activity of extracts of the red seaweed *Asparagopsis armata* against pathogenic microbial strains.

The extraction method used is maceration in four solvents: Methanol, dichloromethane, hexane and acetone. The yield from the methanol extract was the highest. Phytochemical screening of the two extracts, methanol and dichloromethane, revealed the presence of several secondary metabolites like phenols, flavonoids, terpenoids and carotenoids. The antimicrobial activity of these two extracts was tested at different concentrations.

Antibacterial testing of the studied extracts was carried out using the disc diffusion method against five bacterial strains: three gram positive (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 and *Staphylococcus aureus* 639c) and two gram negative (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*). Antibigrams were used as positive controls.

The dichloromethane extract exhibited the best antibacterial effect with inhibitory diameters that vary between  $9\pm 0$  mm and  $26\pm 0$  mm. The strain *L. monocytogenes* was the most sensitive to both extracts at all concentrations. The strains were sensitive to some of the antibiotics tested.

The method of direct contact was used to evaluate the antifungal activity against four strains: *Aspergillus carbonarius* M 333, *Aspergillus flavus* NRRL 3251, *Aspergillus ochraceus* ATCC 3174, *Penicillium glabrum*. Positive controls were tested with the antifungal Nystatin.

The results showed antifungal activity, more remarkable in methanolic extract with inhibitory rates up to 100% for *A. carbonarius* and *P. glabrum*. Nystatin completely inhibited the growth of all fungi.

**Keywords:** *Asparagopsis armata*, antifungal, antibacterial, inhibition, secondary metabolites, extract.

# Table des matières

|  |     |
|--|-----|
| Liste des abréviations .....   | iii |
| Liste des figures .....  | x   |
| Liste des tableaux .....   | xi  |
| <b>Introduction</b> .....  | 1   |
| <b>Chapitre I : Etude bibliographique</b> .....                                    | 4   |
| <b>I. Algues marines</b> .....   | 5   |
| I.1. Algues marines .....  | 5   |
| I.2. Classification des algues marines .....                                       | 5   |
| I.2.1. Algues vertes (Chlorophycées) .....   | 5   |
| I.2.2. Algues rouges (Rhodophycées) .....  | 6   |
| I.2.3. Algues brunes (Phéophycées) .....   | 6   |
| I.3. Constituants essentiels des algues marines .....                              | 7   |
| I.3.1. Métabolites primaires .....   | 7   |
| I.3.2. Métabolites secondaires .....   | 10  |
| I.4. Reproduction des algues .....   | 11  |
| I.4.1. Reproduction sexuée .....   | 11  |
| I.4.2. Reproduction asexuée .....  | 12  |
| I.5. Caractéristiques générales sur l'algue rouge <i>Asparagopsis armata</i> ..... | 13  |
| I.5.1. Taxonomie .....   | 13  |
| I.5.2. Morphologie .....   | 14  |
| I.5.3. Biotope .....   | 14  |
| I.5.4. Répartition géographique .....  | 15  |
| I.5.5. Cytologie .....   | 15  |
| I.5.6. Cycle de reproduction .....   | 15  |
| I.5.7. Espèces similaires .....  | 17  |
| I.5.8. Utilisations d' <i>Asparagopsis armata</i> .....                            | 17  |
| <b>II. Activités biologiques des algues</b> .....                                  | 18  |
| II.1. Activité antioxydante .....  | 18  |
| II.2. Activité antimicrobienne .....   | 19  |

|  |                                    |
|--|------------------------------------|
| <b>III. Mycètes et bactéries étudiées.</b> .....         | 21                                 |
| III.1. Mycètes.....                                      | 21                                 |
| III.2. Bactéries .....                                   | 22                                 |
| <b>Chapitre II : Matériels et méthodes</b> .....         | 25                                 |
| <b>I. Matériel biologique</b> .....                      | 26                                 |
| I.1. Algue étudiée et la zone d'échantillonnage.....     | 26                                 |
| I.2. Souches bactériennes et les souches fongiques ..... | 27                                 |
| <b>II. Méthodes expérimentales</b> .....                 | 27                                 |
| II.1. Préparation des extraits d'algues .....            | 27                                 |
| II.2. Calcule du rendement .....                         | 28                                 |
| II.3. Criblage phytochimique.....                        | 28                                 |
| II.4. Activité antimicrobienne.....                      | 31                                 |
| II.4.1. Activité antibactérienne .....                   | 31                                 |
| II.4.2. Activité antifongique .....                      | 33                                 |
| <b>Chapitre III : Résultats et discussion</b> .....      | 36                                 |
| I. Rendement des extraits .....                          | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| II. Criblage phytochimiques .....                        | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| III. Activité antibactérienne.....                       | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| IV. Activité antifongique.....                           | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| <b>Conclusion</b> .....                                  | 49                                 |
| <b>Références bibliographiques</b> .....                 | 51                                 |
| <b>Annexes</b>   |                                    |

# Liste des figures

|   |  |
|---|--|
| <b>Figure 1</b> : <i>Asparagopsis armata</i> (Bárbara, 2008).....   | 13                                     |
| <b>Figure 2</b> : <i>Falkenbergia rufolanosa</i> (Le tétrasporophyte de <i>A. armata</i> ) (Bárbara, 2012). ....                          | 14                                     |
| <b>Figure 3</b> : Schéma de cycle de reproduction de <i>Asparagopsis armata</i> (Wacquand, 2010). ....                                    | 16                                     |
| <b>Figure 4</b> : Photo illustrant <i>Asparagopsis armata</i> avant le séchage. ....  | 26                                     |
| <b>Figure 5</b> : Côte marine Salamandre de la région de la région de collecte (Google map, 2023).<br>.....                               | 26                                     |
| <b>Figure 6</b> : Diagramme illustrant le rendement des extraits. ....  | <b>Erreur ! Signet non défini.</b>     |
| <b>Figure 7</b> : Activité antibactérienne des extraits de DM et MeOH vis-à-vis <i>E. coli</i> . ....                                     | <b>Erreur !<br/>Signet non défini.</b> |
| <b>Figure 8</b> : Activité antibactérienne des extraits de DM et MeOH vis-à-vis <i>B. subtilis</i> . ....                                 | <b>Erreur !<br/>Signet non défini.</b> |
| <b>Figure 9</b> : Activité antibactérienne des extraits de DM et MeOH vis-à-vis <i>L. monocytogenes</i> .<br>.....                        | <b>Erreur ! Signet non défini.</b>     |
| <b>Figure 10</b> : Histogramme présente la comparaison entre l'activité antibactérienne des extraits<br>Méthanol et Dichlorométhane. .... | <b>Erreur ! Signet non défini.</b>     |
| <b>Figure 11</b> : Résultats de l'activité des extraits vis-à-vis <i>A. carbonarius</i> ....  | <b>Erreur ! Signet non<br/>défini.</b> |
| <b>Figure 12</b> : Résultats de l'activité des extraits vis-à-vis <i>A. flavus</i> ..   | <b>Erreur ! Signet non défini.</b>     |
| <b>Figure 13</b> : Résultats de l'activité des extraits vis-à-vis <i>P. glabrum</i> .....   | <b>Erreur ! Signet non<br/>défini.</b> |
| <b>Figure 14</b> : Histogramme représente l'activité antifongique des deux extraits. ....   | 49                                     |

## Liste des tableaux

|   |                                    |
|---|------------------------------------|
| <b>Tableau 1</b> : Classification d' <i>Asparagopsis armata</i> (Garon-Lardiere, 2004). .....                   | 13                                 |
| <b>Tableau 2</b> : Souches microbiennes, et leurs références.....   | 27                                 |
| <b>Tableau 3</b> : Différentes concentrations des extraits étudiées dans le test antibactérien.....             | 31                                 |
| <b>Tableau 4</b> : Antibiotiques choisis leurs codes et leurs concentrations. ....                              | 32                                 |
| <b>Tableau 5</b> : Différentes concentrations des extraits étudiées dans le test antifongique. ....             | 33                                 |
| <b>Tableau 6</b> : Poids et rendement des extraits étudiée. ....  | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| <b>Tableau 7</b> : Résultats de criblage phytochimique des extraits de Dichlorométhane et de Méthanol.....      | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| <b>Tableau 8</b> : Diamètres des zones d'inhibitions de l'extrait de Méthanol...<br><b>défini.</b>              | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| <b>Tableau 9</b> : Diamètres des zones d'inhibitions de l'extrait de Dichlorométhane. ....                      | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| <b>Tableau 10</b> : Effet de DMSO sur les souches. ....   | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| <b>Tableau 11</b> : Diamètres des zones d'inhibitions et la sensibilité des souches aux antibiotiques.<br>..... | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| <b>Tableau 12</b> : Effet des extraits de DM et MeOH sur les diamètres des champignons.....                     | 46                                 |



# **Introduction**

Les algues sont des organismes photosynthétiques que l'on trouve dans les milieux aquatiques d'eau douce ou marine, aussi présents sur le sol, sur le tronc des arbres, sur les murs humides...etc. Elles comprennent 20000 à 30000 espèces (Garon-Lardiere, 2004), Les algues ont développé une variété de mécanismes de défense chimiques pour faire face aux conditions environnementales extrêmes, aux compétiteurs et aux prédateurs. Ces mécanismes de défense chimiques sont souvent liés à la production de composés bioactifs, qui peuvent avoir différentes fonctions protectrices (Ponte *et al.*, 2022).

L'intérêt pour les algues en tant que sources potentielles de composés actifs a considérablement augmenté ces dernières années (Mayer et Hamann, 2005).

Effectivement, les rhodophycées en particulier le genre *Asparagopsis*, sont connues par la production des substances chimiques, comprenant des composés halogénés (McConnell et Fenical, 1977), des composés phénoliques (Ponte *et al.*, 2022 ; Pinto *et al.*, 2022), des pigments, des composés lipophiles et aromatiques (Pinto *et al.*, 2022).

Plusieurs études ont été réalisées sur les extraits d'*A. armata* et sur les molécules précédemment mentionnées, mettant en évidence leur efficacité biologique. Ainsi, ils ont été associée avec plusieurs activité biologiques tels que l'activité antioxydante (Zubia *et al.*, 2009 ; Bouhlal *et al.*, 2013 ; Feki *et al.*, 2022), antibactérienne (Bansemir *et al.*, 2006 ; Paul *et al.*, 2006 ; Pinteus *et al.*, 2015), antifongique (Genovese *et al.*, 2013 ; Messahli *et al.*, 2021), antiparasitaire (Genovese *et al.*, 2009), anti-inflammatoire (Feki *et al.*, 2022), anticancéreuse (Zubia *et al.*, 2009).

Ces molécules bioactives pourraient avoir des implications dans l'industrie et le développement de nouveaux médicaments et agents thérapeutiques. En raison de la menace croissante de résistance aux antibiotiques existants qui revient à la capacité génétique des microbes d'acquérir et de transmettre cette résistance, il est très important de trouver de nouvelles solutions et approches pour faire face à ce problème qui est selon l'OMS devenue une préoccupation mondiale en matière de santé publique.

Dans ce contexte, le présent travail vise à étudier l'activité antimicrobienne de deux extraits, dichlorométhane et méthanol de l'algue rouge *Asparagopsis armata* récolté de la wilaya de Mostaganem dans le nord-ouest Algérien. Notre travail englobe trois principales étapes, D'abord, l'extraction et la mise en évidence de la présence de certains composés de l'algue étudiée par des tests phytochimiques préliminaires. Ensuite, l'étude d'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis cinq souches bactérienne pathogènes : *Escherichia coli*,

*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*. Et enfin, l'évaluation du pouvoir antifongique des extraits vis-à-vis trois champignons phytopathogène : *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium glabrum*.

A cet effet, le présent travail est organisé en trois chapitres : Nous présenterons, dans un premier chapitre, des généralités sur les algues, les activités biologiques des algues ainsi qu'un rappel sur les souches microbiennes ont été étudiés. le deuxième chapitre de ce travail, porte sur l'ensemble du matériel et des méthodes appliquées .Le troisième chapitre du mémoire sera consacrée à la présentation de l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent. Nous terminerons cette étude par une conclusion et des perspectives de recherche à venir.



# Chapitre I : Etude bibliographique

## **I. Algues marines**

### **I.1. Algues marines**

Les organismes vivants classés sous le nom de «algues» forment un groupe hétérogène très diversifiés qui compte selon les estimations récentes jusqu'à 350 000 espèces (Brodie *et al.*, 2007). Les algues marines sont des plantes qui vivent dans les écosystèmes aquatiques (les océans, les mers, les lacs et les rivières), elles sont des organismes uni ou pluricellulaire, photosynthétiques qui utilisent la lumière du soleil pour produire leur propre nourriture, chlorophylliens et thallophytes dont l'appareil végétatif est le "thalle" (Perez *et al.*, 1992).

Ces algues occupent une place importante dans les milieux marins, ce qui les rend abondantes et accessibles. Ce sont des organismes moins évoluées, dépourvues d'armes défensives, qui vivent dans des conditions environnementales et écologiques difficiles (salinité, manque de lumière, pression, et compétence inter et intra spécifique...) (Riahi *et al.*, 2011). Elles fournissent de la nourriture et de l'oxygène à de nombreux individus marins tels que les poissons, les mollusques et les crustacés..., elles constituent la base de la chaîne alimentaire marine (Mollo et Noury, 2013).

Les algues marines sont également utilisées dans de nombreux domaines, notamment dans l'alimentation, l'agriculture, la pharmacie, la cosmétique, ... (Fleurence, 2022).

### **I.2. Classification des algues marines**

Les algues marines comme tous les organismes vivants se classe en plusieurs groupes taxonomiques selon des critères génotypiques ou phénotypiques, on distingue selon leurs couleurs et leur composition pigmentaire trois grandes classes :

#### **I.2.1. Algues vertes (Chlorophycées)**

Les chlorophycées comprend environ 6429 espèces sous forme de micro ou macro-algues, elles sont des algues vertes qui se caractérise par leur pigmentation verte due à la présence de chlorophylles a et b dans leur cellules souvent associées au d'autre pigments qui donne une teinte de couleur vert foncé ou vert clair (Sexton et Lomas, 2018).

Les chlorophycées peuvent se trouver dans une grande variété d'environnement aquatiques, la plupart (90%) vivent en eau douce, seulement 10% vivent dans les eaux saumâtres ou salées (Dawes, 2016) et certaines peuvent également être terrestres, poussant sur des roches, des arbres ou dans des sols humides (Floc'h et Leclerc, 2010). Parmi les algues vertes, les macro-algues sont assez rares et dépasse rarement plus d'un mètre (Lewis et McCourt, 2004). Elles jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale (Garon-Lardiere, 2004).

### **I.2.2. Algues rouges (Rhodophycées)**

Les algues rouges ou les rhodophycées forment un groupe très diversifié, elles se caractérisent par la présence des plastes roses contenant le pigment appelé "phycoérythrine" responsable de leur couleur rouge, associée à plusieurs autres pigments tel que les chlorophylles et les caroténoïdes (Garon-Lardiere, 2004).

La plupart des rhodophycées sont marines où certaines espèces peuvent se trouver dans les eaux douces. Ainsi, elles sont moins abondantes dans l'océan Arctique par rapport aux zones plus proches des tropiques (Ruiz, 2005). La majorité des espèces sont pluricellulaires mais ne dépasse que très rarement un mètre de taille et il existe quelques espèces d'algues rouges unicellulaires (Le Gall, 2012).

Les algues rouges ont un intérêt économique et industriel dont certaines espèces sont utilisées directement à des fins alimentaires, et certaines d'autres sont utilisé dans la production du gélifiant (agar), de cosmétiques, ou comme additifs dans des produits alimentaires (Le Gall, 2012).

### **I.2.3. Algues brunes (Phéophycées)**

Les algues brunes ou les phéophycées comptent environ 2000 espèces (Bringloe *et al.*, 2020). Leur couleur allant de brun clair au brun foncé est en raison de l'abondance des pigments bruns appelés "la fucoxanthine", qui masque les autres pigments (chlorophylles a et c, et le bêta-carotène) (Garon-Lardiere, 2004). Elles sont presque exclusivement des algues marines, Elles se propagent principalement dans les mers tempérées et froides formant de vastes forêts sous-marines. Dans les eaux tropicales, le nombre d'espèces est moindre, mais représentent les plus grands thalles et forment les populations les plus denses (Ainane, 2011).

Les algues brunes ont des applications importantes, notamment dans le domaine agricole, alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Fleurence, 2022).

### **I.3. Constituants essentiels des algues marines**

#### **I.3.1. Métabolites primaires**

##### **I.3.1.1. Eléments minéraux**

Les minéraux considérés comme essentiels à la vie humaine répartissent en deux catégories générales : les macros minérales et les micros minéraux. Ils ont des fonctions structurales, physiologiques et catalytiques (Fox et Zimba, 2018).

Les minéraux sont capturés du milieu extérieur dans la paroi où plus le milieu est riche en éléments minéraux, plus il y en a dans la paroi des algues, pouvant atteindre jusqu'à 25% de la matière sèche chez certaines espèces. Parmi ces minéraux trouvés chez les algues, nous citons : le calcium, le potassium, le phosphore, le sodium, le silicium, le soufre, le chlore, le sélénium, le magnésium, le fer, le cuivre, le zinc, le manganèse, le bore, le cobalt et le nickel (Floc'h et Leclerc, 2010).

##### **I.3.1.2. Polysaccharides**

Les polysaccharides forment un groupe hétérogène de polymères avec de multiples compositions différentes et des longueurs différentes. Ils sont composés de résidus monosaccharidiques liés par des liaisons dites glycosidiques. La liaison ainsi formée peut être dans la configuration  $\alpha$  ou  $\beta$  (Robyt, 1998).

Les polysaccharides des algues forment une grande famille au sein de laquelle on distingue :

- **Polysaccharides de réserve** : stockées à l'intérieur de la cellule, il s'agit de la lamarine, l'amidon floridéen et le glucane.
- **Polysaccharides de faible poids moléculaire** : ils sont solubles dans le milieu et traversent la membrane afin de réguler la pression osmotique, il s'agit de floridoside, isofloridoside, polyols, D-mannitol et des monosaccharides comme le fructose ou le saccharose chez les algues vertes (Garon-Lardiere, 2004).

- **Polysaccharides pariétaux** : ou les polysaccharides de structure, ils se trouvent dans la paroi constituée de deux phases : **une phase cristalline(squelettique)** contenant des polysaccharides insolubles de structure (la cellulose essentiellement, les mannanes et les xylanes) et **une phase amorphe(matricielle)** constituée de polysaccharides plus hydrosolubles, les échanges cationiques ont lieu dans cette matrice, certains polysaccharides de cette phase produite par des algues rouges dont les carraghénanes et les agar colloïdes ont des application alimentaire, cosmétiques et pharmaceutiques en tant qu'épaississants, stabilisateurs ou agent gélifiant (Bourgougnon et Gervois, 2021).

### **I.3.1.3. Fibres**

Les algues synthétisent une quantité importante de fibres (polysaccharides du point de vue chimique). Cela permet aux algues de garder l'eau à l'intérieur de leurs cellules et de rester intactes durant les phases de marée basse sans se dessécher. Parmi les fibres insolubles on retrouve une fraction cellulosique et d'autres fibres ayant des structures mal connues. Les structures des fibres solubles des algues alimentaires vertes, rouges et brunes sont très diversifiées et majoritairement différentes de celles des végétaux supérieurs. Néanmoins, certains polysaccharides ont été identifiés comme les pirulane, polysaccharides sulfatés de la Spiruline, qui peuvent avoir des propriétés potentiellement intéressantes pour la santé (Marfaing, 2017).

### **I.3.1.4. Protéines**

Les protéines jouent un rôle structural important, ils ont une influence sur de nombreux processus biochimiques tels que le transport des ions et de l'oxygène, l'adhésion cellulaire et les réponses immunitaires (Bourgougnon et Gervois, 2021). Chez certaines algues vertes et rouges, les protéines peuvent représenter 20 à 35% de la matière sèche (Floc'h et Leclerc, 2010).

La qualité nutritionnelle des protéines peut être évaluée par leur profil en acides aminés et leur teneur en acides aminés essentiels que l'homme ne peut pas synthétiser et doivent être obtenus à partir de l'alimentation (Bourgougnon et Gervois, 2021).

Les protéines d'algues sont connues pour être riches en acides aminés essentiels qui sont présents en quantités importantes chez certaines espèces. De nombreuses algues peuvent être utilisées comme source de protéines végétales pour l'alimentation humaine et animal, elles ont donc une grande qualité nutritionnelle (Bourgougnon et Gervois, 2021).

### **I.3.1.5. Lipides**

Les macroalgues ont une faible teneur en lipides de 1 à 3% de la matière sèche, au contraire de certaines espèces microscopiques qui sont riches en lipides jusqu'à 40% de leur poids (Becker, 2004). Cependant, en termes de qualité, les lipides d'algues ont un pourcentage élevé d'acides gras essentiels (Darcy-Vrillon, 1993 *in* Marfaing et Lerat, 2007).

Certains acides gras, notamment les acides gras "oméga-3" et "oméga-6", dits "essentiels", ne peuvent être synthétisés en quantité suffisante par l'organisme des mammifères et doivent être apportés par l'alimentation. Les algues peuvent être une source intéressante d'acides gras essentiels, par exemple sous forme de compléments alimentaires (Tanniou, 2014).

### **I.3.1.6. Caroténoïdes**

Chez les algues, comme les autres végétaux, les caroténoïdes jouent un rôle dans l'absorption de l'énergie lumineuse. Ils assurent la transmission de la lumière à la chlorophylle ainsi que, la protection des cellules contre les effets nocifs des rayons ultraviolets (Lerat, 2013). Différents caroténoïdes comme l'alpha et le bêta-carotène, la lutéine, la zéaxanthine et la fucoxanthine ont été identifiés dans les algues (Marfaing, 2017).

Les caroténoïdes sont de puissants antioxydants. Les caroténoïdes algaux ont des propriétés antioxydantes et jouent un rôle dans la prévention contre plusieurs pathologies liées au stress oxydatif (Okuzumi *et al.*, 1993 ; Yan *et al.*, 1999 *in* Marfaing et Lerat, 2007). Où de nombreuses études ont permis de faire la liaison entre une alimentation riche en caroténoïdes et une diminution des risques de maladies cardiovasculaires, de certaines formes de cancer, ainsi que de certaines maladies ophtalmologiques (Lerat, 2013).

### **I.3.1.7. Vitamines**

La composition des algues en vitamines varie en fonction de l'espèce d'algues, le stade de croissance, la zone géographique, et de divers paramètres abiotiques tels que la salinité, la saisonnalité, la disponibilité de la lumière et la température de l'eau. Dans de nombreux cas, la lumière est un régulateur important de la biosynthèse des vitamines (Bourgougnon et Gervois, 2021).

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 (Watanabe *et al.*, 1999 *in* Marfaing et Lerat, 2007).

### **I.3.2. Métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont des molécules de structure complexe et originale et généralement très stables (Le Pogam *et al.*, 2015). Ils sont des composés synthétisés par les algues dans deux conditions. D'une part, les algues produisent ces substances dans le cas de stress pour se protéger des agressions biotiques et abiotiques de leur environnement. D'autre part, ces métabolites secondaires agissent comme des vecteurs de communications chimiques (Kornprobst, 2005 ; Bedoux et Bourgougnon, 2015 *in* Burlot, 2016).

Les algues produisent une grande variété de métabolites secondaires caractérisés par un large spectre d'activités biologiques (Marfaing, 2017). On distingue trois grandes familles :

#### **I.3.2.1. Composées phénoliques (polyphénols)**

La majorité des algues marines contiennent des polyphénols algaux aussi appelés phlorotannins. Ces phlorotannins constituent un groupe de molécules très hétérogène, fournissant ainsi une grande variété d'activités biologiques potentielles. Les teneurs les plus élevées sont retrouvées dans les algues brunes entre 5 et 15 % du poids sec (Glombitza et Keusgen, 1995).

Du point de vue chimique et structural, les phlorotannins sont des polymères et des oligomères du phloroglucinol. Plusieurs activités biologiques sont rapportées pour les polyphénols dont l'activité antioxydante, protection vis-à-vis des radiations, antibiotiques, régulation de la glycémie, inhibition des enzymes digestives (Holdt et Kraan, 2011).

#### **I.3.2.2. Isoprénoïdes (Terpénoïdes)**

Les isoprénoïdes ou terpénoïdes constituent une vaste famille de substances naturelles et plus de la moitié des métabolites secondaires reportés chez les algues (Gaubert, 2018). Leur squelette carboné est composé d'un élément de base commun à cinq atomes de carbone et dérivé de l'isoprène (C5). La classification de ces composés est basée sur le nombre d'unités isoprénique impliquées dans leur formation et on distingue les hémiterpènes (C5), les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20), les sesterterpènes (C25), les triterpènes (C30), les tétraterpènes (C40) et les polyterpènes (C5n). Les isoprénoïdes sont présents chez tous les organismes vivants et possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques, et des activités biologiques très diverses (Vandermoten *et al.*, 2008).

### **I.3.2.3. Alcaloïdes**

Les alcaloïdes représentent un groupe de métabolites secondaires important et très diversifié sur le plan structurel. La présence d'azote dans leur architecture moléculaire confère une activité biologique à une fraction exceptionnellement importante de cette classe de composés (Netz et Opatz, 2015).

Les alcaloïdes isolés des algues marines appartiennent principalement aux groupes des phényléthylamines et des indoles. Ils sont relativement rares par rapport aux alcaloïdes des plantes terrestres (Güven *et al.*, 2010). Ils peuvent être classés en divers groupes : alcaloïdes isoquinoline, pyridiniques, indolique, stéroïdiques, et d'autres alcaloïdes (Yan *et al.*, 2021).

## **I.4. Reproduction des algues**

Les algues, comme tout organisme vivant sur terre, se reproduisent, puisqu'elle s'agit d'une caractéristique fondamentale qui joue un rôle crucial dans leur processus de développement et leur survie. En utilisant principalement deux modes de reproduction, la reproduction sexuée et asexuée (Bourgougnon et Gervois, 2021).

### **I.4.1. Reproduction sexuée**

Chez les algues, elle se déroule en deux étapes, comprenant la syngamie (fusion) qui forme un zygote diploïde, et la méiose pour générer des cellules haploïdes à nouveau et ainsi compléter le cycle. Au sien de l'étape de syngamie, plusieurs types peuvent être observés, tels que :

- **L'isogamie** : les deux gamètes sont identiques morphologiquement.
- **L'anisogamie** : les deux gamètes sont distincts morphologiquement.
- **Planogamie** : elle s'effectue entre deux gamètes flagellés et mobiles.
- **L'oogamie** : dans ce type, le gamète femelle est grand, immobile et riche en réserves et en plastes se fusionnent avec un gamète mâle flagellé.
- **La trichogamie** : le gamète femelle reste sur le gamétophyte et forme une élongation dite trichogone sur laquelle le gamète mâle se fixe (Bourgougnon et Gervois, 2021).

Les espèces d'algues peuvent présenter des variations dans ces deux étapes et leur durée. En raison de ces variations, Cormier, (2015) à proposer une classification des algues en trois groupes principaux en fonction de leur cycle de reproduction.

- **Cycle haploïde** : ce cycle est caractérisé par la dominance de phase haploïde, et la phase diploïde est réduite en zygote, le zygote subit la méiose formant des méiospores qui se développent à l'origine d'organisme multicellulaire en produisant des gamètes. Les gamètes se fusionnent et redonnent un nouveau zygote. Ce type de cycle est observé chez les chlorophycées.
- **Cycle diploïde** : dans ce cycle, la phase dominante est la phase diploïde, aussi appelée sporophyte, la phase haploïde ou gamétophyte est réduite en gamètes. Après la formation des gamètes dans les gamétocystes, ils fusionnent pour former un zygote qui se développe en un sporophyte grâce à des différenciations somatiques par mitose. Le sporophyte subit la méiose afin de former des méiospores qui se développent en gamétophytes. Ce cycle est observé chez certaines algues vertes et brunes.
- **Cycle diploïde haploïde (trigénétiq ue)** : il est présent chez les algues rouges et certaines algues brunes, il se caractérise par l'alternance de trois phases, dont une est haploïde et les deux autres sont diploïdes. La première génération est le gamétophyte à  $n$  chromosome (haploïde), les deux gamètes mâle et femelle fusionnent pour donner naissance à un zygote. Le zygote forme sur le gamétophyte porteur un carposporophyte qui représente la deuxième génération diploïde ( $2n$  chromosomes), le carposporophyte se développe en parasite sur le gamétophyte et formera des carpospores qui germent pour donner la troisième génération (le tétrasporophyte), ce dernier produit des tétraspores qui se développent en gamétophytes à nouveau (Bourgougnon et Gervois, 2021).

#### **I.4.2. Reproduction asexuée**

Ne nécessite pas la fusion du matériel génétique, elle se produit de différentes manières, notamment par division binaire des cellules, fragmentation du thalle ou formation de spores (Garon-Lardiere, 2004).

## I.5. Caractéristiques générales sur l’algue rouge *Asparagopsis armata*

*Asparagopsis armata* (figure 1) est une espèce marine qui fait partie des rhodophytes ou les algues rouges. Elle a été décrite pour la première fois en Nouvelle-Zélande par Harvey en 1855 (Bonin et Hawkes, 1987).

Cette espèce photophile se développe au niveau de l’infralittoral supérieur, entre la surface et six mètres de profondeur (Cabioc’h *et al.*, 1992 in Garon-Lardiere, 2004). Leur teneur en phycobiliprotéines les permis de pallier des environnements encore plus sombres et de capter différentes fréquences lumineuses du rayonnement solaire (Pérez, 1997).



**Figure 1** : *Asparagopsis armata* (Bárbara, 2008).

### I.5.1. Taxonomie

**Tableau 1** : Classification d’*Asparagopsis armata* (Garon-Lardiere, 2004).

|                    |                            |
|--------------------|----------------------------|
| <b>Règne</b>       | Plantae                    |
| <b>Division</b>    | Rhodophyta                 |
| <b>Classe</b>      | Rhodophyceae               |
| <b>Sous-classe</b> | Florideophyceae            |
| <b>Ordre</b>       | Bonnemaisoniales           |
| <b>Famille</b>     | Bonnemaisoniaceae          |
| <b>Genre</b>       | <i>Asparagopsis</i>        |
| <b>Espèce</b>      | <i>Asparagopsis armata</i> |

### **I.5.2. Morphologie**

*Asparagopsis armata* se reproduit suivant un cycle dit hétéromorphique, ce qui signifie que la morphologie d'algue diffère pendant les phases du cycle. La phase gamétophytique dure de juin à septembre, le thalle d'algue pendant cette phase présente une structure semblable à celle des plantes, pouvant atteindre jusqu'au 20 cm de long. Il a une couleur de rose pâle ou rouge-rose.

En revanche, la phase tétrasporophyte, aussi appelé *Falkenbergia rufolanosa* (Figure 2). L'algue présente un aspect filamenteux et une couleur rouge-brun, avec des touffes qui peuvent atteindre 15 mm de diamètre, cette phase dure d'octobre à mars (Guiry, 1996).



**Figure 2 :** *Falkenbergia rufolanosa* (Le tétrasporophyte de *A. armata*) (Bárbara, 2012).

### **I.5.3. Biotope**

*Asparagopsis armata* est une algue photophile qui se développe au niveau de l'infra littoral supérieur qui est entre la surface et la profondeur de dix mètres, dans des zones modérément battues (Cabioc'h *et al.*, 1992 in Garon-Lardiere, 2004).

Cette algue est plus souvent épiphyte d'autres algues, elle s'accroche par l'intermédiaire de « harpon » aux algues environnantes (Garon-Lardiere, 2004), qui les utilise comme un support pour sa croissance sans les causer des détriments.

#### **I.5.4. Répartition géographique**

*Asparagopsis armata* est endémique d'hémisphère sud et originaire d'Australie y compris Tasmanie et Nouvelle-Zélande (Horridge, 1951 ; Kraan et Barrington, 2005). Elle était introduite en Atlantique et en méditerranée en 1920 (Feldmann, 1942 ; Andreakis *et al.*, 2004) et rapporté pour la première fois en Algérie en 1923.

Depuis lors, l'algue était signalée en quatre régions distincts d'Europe. La propagation d'algue était probablement due à quatre événements d'introduction (Westbrook, 1930 ; Svedelius, 1933 ; Ponte *et al.*, 2022).

De nos jours, *A. armata* est répartie dès nord Atlantic jusqu'aux côtes du Sénégal (Dixon et Irvine, 1977 ; Price *et al.*, 1986 ; Pinto *et al.*, 2022).

#### **I.5.5. Cytologie**

Le thalle d'*Asparagopsis armata* est de couleur rouge rosé à rose pâle, il est constitué d'un axe principal cylindrique d'environ 1 mm, cet axe est constitué d'une succession alternée de rameaux longs à croissance indéfinie, de rameaux courts appelés les brachyblastes, et de rameaux épineux, en forme de harpon. Ces rameaux sont couverts de touffes roses de 15 à 30 cm de long (Guiry, 1996).

Les longs rameaux sont générés par le cloisonnement des cellules axiales très allongées générées par une cellule initiale. Les cellules axiales vont donner naissance à deux cellules périaxiales opposées donnant par la suite un filament latéral qui se développe soit en rameaux court, soit en nouveaux rameaux longs indéfinis ou axe secondaire rassemblant à l'axe principal (Bonin et Hawkes, 1987).

Les rameaux courts ou les brachyblastes génèrent des cellules qui se divisent pour donner, la cellule centrale (l'axe principal de rameaux) et trois cellules péricentrales entourant le filament axial, la cellule la plus grande parmi les autres cellules péricentrales enchâsse des petites cellules (Feldmann et Feldmann, 1942) qui renferment des composés halogènes (Combaut *et al.*, 1979).

#### **I.5.6. Cycle de reproduction**

La reproduction de *A. armata* est effectuée suivant un cycle trigénétique (voir la figure 3) qui se déroule en alternance de trois générations, ce cycle se caractérise par une phase haploïde et deux phases diploïdes.

Les deux gamètes mâle et femelle issu de deux gamétophytes (haploïdes) qui présentent la première génération, se fusionnent pour donner naissance à un zygote.

Le zygote engendre sur le gamétophyte porteur un carposporophyte, qui présente la deuxième génération diploïde (à  $2n$  chromosomes), le carposporophyte se développe en parasite sur le gamétophyte et formera des carpospores qui germeront pour donner la troisième génération ou le tétrasporophyte, ce dernier fournit des tétraspores qui vont donner des gamétophytes à nouveau.

Dans le cas de *A. armata* le cycle est dit hétéromorphique, à cause de la distinction morphologique entre la 3<sup>ème</sup> génération (tétrasporophyte) et la 1<sup>ère</sup> génération (gamétophyte). Ce qui explique l'appellation différente donnée tétrasporophyte par *Falkenbergia rufolanosa* et le fait qu'il était considéré comme une espèce différente (Garon-Lardiere, 2004).

Ce cycle a été observé pour la première fois chez *Asparagopsis armata* (Feldmann et Feldmann, 1939).

Il existe un autre type de propagation chez *A. armata*. Il s'agit de la multiplication végétative qui se génère à partir d'une partie de thalle.

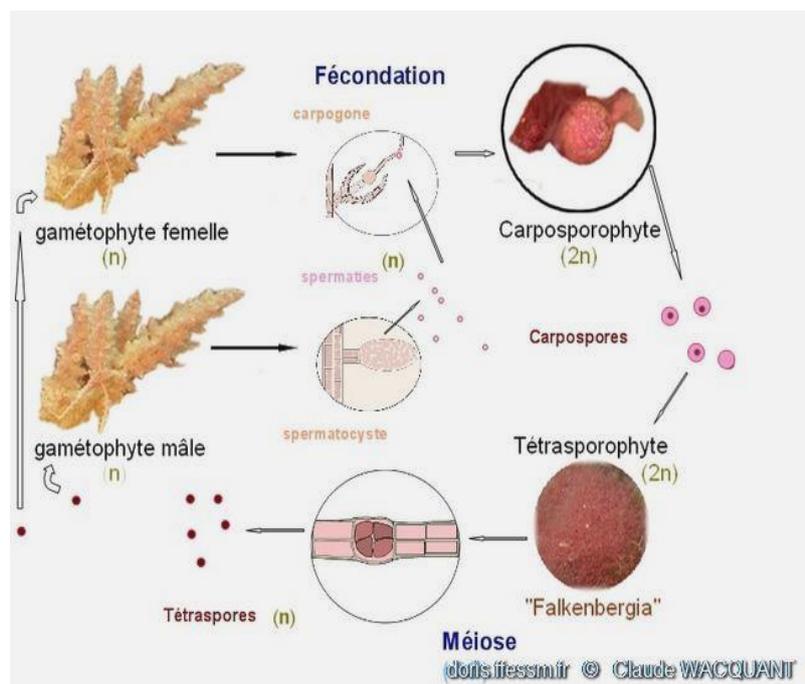


Figure 3 : Schéma de cycle de reproduction de *Asparagopsis armata* (Wacquant, 2010).

### I.5.7. Espèces similaires

- *Asparagopsis taxiformis*

Elle a été décrite pour la première fois par Delile Trevisan en 1845, elle appartient au même genre de *A. armata*, ils sont taxonomiquement proche ce qui entraîne plusieurs similarités entre elles, notamment au niveau de leur aspect gamétophytique, sauf que *A. taxiformis* n'ont pas de harpon (Guiry, 1996), de plus, leurs tétrasporophytes (*Falkenbergia rufolanosa* de *A. armata*, *falkenbergia hillebrandii* de *A. taxiformis*) sont considérées comme indiscernable par des experts (Feldmann, 1942).

- *Bonnemaisonia hamifera*

Une algue rouge de genre *Bonnemaisonia*, décrite par Haroit en 1845, elle présente une morphologie de phase tétrasporophyte très similaire à celle de *A. armata*, elle est tellement semblable que leur distinction nécessite l'utilisation d'un microscope (Guiry, 1996).

### I.5.8. Utilisations d'*Asparagopsis armata*

Le genre *Asparagopsis* est bien connu comme une immense source de métabolites secondaires généralement tels que les polysaccharides, et de molécules bioactives comme les composées halogènes (McConnell et Fenical, 1976), les composées phénoliques (Pinto *et al.*, 2022 ; Ponte *et al.*, 2022), les composées lipophiliques et aromatiques (Pinto *et al.*, 2022). Ces composées sont associées avec plusieurs activités biologiques (Ponte *et al.*, 2022), antimicrobienne (Pinteus *et al.*, 2018), antioxydante (Zubia *et al.*, 2009) anticancéreuse (Alves *et al.*, 2016 ; Alves *et al.*, 2018) ...etc. L'exploitation de ces molécules donne une valeur ajoutée à l'industrie pharmaceutique pour synthétiser des médicaments qui vont lutter contre les problèmes majeurs de santé publique précisément le problème de résistance des microorganismes vis-à-vis les antibiotiques. Les polysaccharides (carraghénanes) sont utilisés comme des excipients dans les médicaments, ou dans la préparation de principe actif (Van de Velde et De Ruitter, 2002).

Au nord d'Europe, *A. armata* est cultivée afin d'exploiter ses composées bioactives (Kraan et Barrington, 2005). Une entreprise française Algues et Mer a développé un produit appelé Ysaline<sup>®</sup> 100, il est utilisé comme un préservateur naturel dans les produits cosmétique aussi comme un traitement anti-acné (Moigne, 1998).

Machado *et al.*, (2014) ont montré que l'ajout de l'algue dans l'alimentation des bovins pourraient potentiellement réduire les émissions de méthane.

En industrie agro-alimentaire, les polysaccharides de *A. armata* principalement les agars et les carraghénanes sont exploités en tant que des gélifiants et stabilisants de plusieurs produits alimentaires (Garon-Lardiere, 2004).

## **II. Activités biologiques des algues**

### **II.1. Activité antioxydante**

Les réactions biochimiques qui prennent place dans la cellule sont la force qui assure la continuité de vie cellulaire. Cependant, beaucoup de ces réactions génèrent des atomes ou molécules dites les radicaux libres qui possèdent des électrons non appariés ce qui les confère une grande réactivité chimique et une haute instabilité (Carocho et Ferreira., 2013).

La génération des radicaux libres est stimulée par deux types de facteurs, des facteurs endogènes naturels, on cite les peroxyosomes, la mitochondrie...etc. Et d'autres exogènes tels que le stress, l'exposition à la fumée, les rayonnements UV...etc. (Lobo *et al.*, 2010).

Le déséquilibre entre la production des radicaux libres et les mécanismes de défense antioxydante engendre le stress oxydatif qui conduit vers la destruction moléculaire et cellulaire, principalement la destruction d'ADN, les lipides et les protéines (Goudable et Favier, 1996 ; Aruoma, 1998).

L'altération des structures cellulaires causée par les radicaux libres est associée avec plusieurs sévères maladies, comme le cancer, les problèmes cardiovasculaires, les désordres neurologiques et ainsi les maladies auto-immunes (Aruoma, 1998).

Jiménez-Escrig *et al.*, (2001), ont rapporté que les cellules des algues possèdent une défense antioxydante très efficace. Grâce à leur teneur de substances antioxydants comprennent les pigments photosynthétiques, les composées phénoliques (Hamed *et al.*, 2015), et même les composées halogènes (Ponte *et al.*, 2022). Ces antioxydants diminuent ou arrête l'action des radicaux libres, soit en inhibant leur production ou bien en limitant leur propagation en agissant comme des piègeurs pour stabiliser les radicaux (Favier, 2003).

*Asparagopsis armata* est parmi les algues rapporté d'avoir une activité antioxydante importante (Zubia *et al.*, 2009 ; Rhimou *et al.*, 2013).

## **II.2. Activité antimicrobienne**

### **II.2.1. Activité antibactérienne**

Les infections bactériennes sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, cependant la lutte contre ces infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ainsi que leurs effets indésirables suscitent des inquiétudes. De ce fait, l'exploitation de nouvelles molécules bioactives ayant des effets secondaires limités ou inexistantes depuis des sources naturelles et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques sont devenues des objectifs prioritaires pour les recherches scientifiques et les industries alimentaires et pharmaceutiques (Abdallah *et al.*, 2019). L'utilisation des algues marines à des fins thérapeutiques est loin d'être un phénomène nouveau (Chbani *et al.*, 2011).

Les algues marines dont le genre *Asparagopsis* synthétisent une grande variété de métabolites secondaires chimiquement actifs, qui sont utilisées pour la défense contre les autres organismes prédateurs ou colonisateurs. Ces métabolites actifs sont produits par plusieurs types de macroalgues et microalgues marines et présentent des propriétés antibactériennes efficaces dans le domaine thérapeutique (Farid *et al.*, 2012).

Les extraits cellulaires et les composants actifs de diverses algues sont révélés d'avoir une activité antibactérienne contre les bactéries Gram positives et Gram négatives (Lima-Filo *et al.*, 2002).

### **II.2.2. Activité antifongique**

Les champignons sont l'origine des infections fongiques, ces microorganismes se reproduisent par la diffusion des spores qui sont souvent présents dans l'air et le sol, ce qui rend leur inhalation et déposition sur les différentes surfaces plus facile (Revankar, 2021).

La majorité des infections fongiques humaines sont acquises par l'inhalation ou l'ingestion des spores (Richardson et Warnock, 2011). Ou bien par l'envahissement des tissus kératinisés d'être humain, les dermatophytes dans le cas de mycose superficielle. (Guedes *et al.*, 2012).

Les infections fongiques sont rarement graves, mais ils peuvent être invasives et touchent les gens qui ont des pathologies liées au système immunitaire, c'est le cas de cancer, et les immunodéprimés (Richardson et Warnock, 2011). Et lorsque la communauté des immunodéprimés surgit, les infections fongiques invasives continuent à augmenter (Guedes

*et al.*, 2012), ce qui selon L'OMS constitue une menace majeure pour la santé publique, surtout avec la résistance acquis par les agents pathogènes vis-à-vis les traitements.

L'OMS dit que seulement quatre classes de médicaments antifongiques sont actuellement disponibles, ce qui dépose des challenges pour identifier de nouveau molécules avec des propriétés antifongiques. Les algues marines sont rapportées comme des sources riche en molécules inhabituels avec des diverses propriétés biologiques (Mandrekar *et al.*, 2019). En particulier, les algues rouges ou les rhodophytes. Comme par exemple, le genre *Asparagopsis* qui ont montré une activité antifongique puissante (Guedes *et al.*, 2012 ; Pinteus *et al.*, 2015) à cause de leur teneur en composées halogènes, composées phénoliques (Ponte *et al.*, 2022) et les caroténoïdes (Pérez *et al.*, 2016).

Plusieurs d'autres activités biologiques ont été associée aux algues tel que l'activité antiparasitaire (Genovese *et al.*, 2009), anti-inflammatoire (Feki *et al.*, 2022), anticancéreuse (Zubia *et al.*, 2009) et antivirale (Bouhlal *et al.*, 2010).

### **III. Mycètes et bactéries étudiées**

#### **III.1. Mycètes**

##### **III.1.1. *Aspergillus carbonarius***

*Aspergillus carbonarius* est un champignon filamenteux saprophyte qui fait partie de la famille des Moniliaceae, asexuée, possède un thalle à mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, non ramifiés, terminés en vésicule (Atoui, 2006).

C'est un contaminant majeur de certaines aliments tropicales et subtropicales comme le raisin et ses dérivés (Zimmerli and Dick, 1996). Son pouvoir pathogène est dû à son capacité de produire de l'ochratoxine A (Abarca *et al.*, 1994 ; Téren *et al.*, 1996). Le potentiel ochratoxigénique chez *A. carbonarius* est élevé (Heenan *et al.*, 1998 *in* Atoui, 2006). Il pourrait être responsable de la production d'OTA dans les raisins (Pitt, 2000 *in* Varga et Kozakiewicz, 2006).

##### **III.1.2. *Aspergillus flavus***

*Aspergillus flavus* a été décrit par Link en 1809. C'est un champignon ascomycète qui appartient à la famille des Trichocomaceae, une espèce asexuée existant dans le sol sous forme de conidies ou de sclérotés et dans les tissus végétaux sous forme de mycélium (Amaike et Keller, 2011).

Il produise des métabolites secondaires, notamment les aflatoxines B1, B2, G1 et G2. Ce champignon est phytopathogène, mais il provoque également des maladies animales et humaines, soit une aflatoxicose ou cancer du foie par l'ingestion des aliments contaminés ou une aspergillose par une croissance invasive, qui est souvent mortel chez les humains immunodéprimés (Hedayati *et al.*, 2007).

##### **III.1.3. *Penicillium glabrum***

*Penicillium glabrum* est un champignon microscopique appartenant à la famille des Aspergillaceae, ubiquiste et cosmopolite, souvent rencontré dans l'industrie alimentaire, du fait de son large présence et son capacité de diffuser un grand nombre de spores dans l'environnement (Pitt and Hocking, 1997).

Ce champignon est responsable de l'altération de nombreux produits, notamment les fromages, les confitures, le maïs, le riz, les châtaignes commercialisées, les céréales stockées, les sodas et les eaux minérales (Nevarez *et al.*, 2008). Ce contaminant fongique ne semble pas produire de mycotoxine connue susceptible de menacer la sécurité alimentaire et la santé des consommateurs (Pitt et Hocking, 1997).

## **III.2. Bactéries**

### **III.2.1. *Bacillus subtilis***

*Bacillus subtilis* est une bactérie Gram positive mobile en forme de bâtonnet, aérobie stricte, productrice d'endospores (Loison, 2013). Elle est surtout connue pour sa capacité à devenir compétente et à subir une sporulation en réponse à la diminution de la nourriture et à des densités de population importantes (Grossman 1995 *in* Lemon *et al.*, 2008). Son génome a ainsi été l'un des premiers à être complètement séquencé (Kunst *et al.*, 1997 *in* Cossus, 2021).

*B. subtilis* est une bactérie ubiquiste, retrouvée principalement dans le sol, notamment dans la rhizosphère en formant des biofilms. Il s'agit d'une bactérie sans risque pour la santé de l'homme (Cossus, 2021). Actuellement utilisée comme probiotique et additif alimentaire et a donc prouvé son innocuité pour l'homme (Kozłowski *et al.*, 1997).

### **III.2.2. *Escherichia coli***

*Escherichia coli* est une bactérie Gram négative de la famille des Enterobacteriaceae, aero-anaérobie facultative, non sporulant (Berg, 1996 ; Gordon et Cowling, 2003). Présent dans la microflore intestinale normale et d'autres surfaces muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud (Beutin, 1999). C'est la bactérie prédominante dans le tractus gastro-intestinal (Tenaillon *et al.*, 2010).

La couche muqueuse intestinal constitue une niche écologique nutritionnelle dans laquelle le métabolisme d'*E. coli* est adapté (Freter *et al.*, 1983). Parmi les espèces d'*E. coli*, certaines souches sont connues pour leur capacité à provoquer des infections intra ou extra-intestinales chez l'homme et l'animal (Beutin, 1999).

### **III.2.3. *Listeria monocytogenes***

Bactérie Gram positive non sporulé, aero-anaérobie facultative ubiquitaire présente dans tout l'environnement (air, eau, sol), c'est un contaminant alimentaire fréquent (Rosset, 2001). Fait partie du groupe des psychrotrophes (Rosset, 1993).

*L. monocytogenes* est une bactérie pathogène responsable d'une zoonose appelée listériose (Roussel *et al.*,2012). Elle est intracellulaire facultative et peut provoquer des infections graves d'origine alimentaire chez l'homme notamment une méningite, encéphalite et septicémie (McLauchlin, 1997).

#### **III.2.4. *Pseudomonas aeruginosa***

*P. aeruginosa* appelée aussi « pyocyanique » est une bactérie Gram négative, aérobie strict, ubiquitaire vivant dans les environnements humides (Morand et Morand, 2017).

C'est un agent pathogène fréquent responsable de nombreuses infections nosocomiales graves (Khalifa *et al.*,2011). Il a de nombreux facteurs de virulence (adhérence, persistance dans un environnement défavorable, formation de biofilms, sécrétion des enzymes et des toxines) (Rybtke *et al.*,2015). Cette bactérie est caractérisée par son haut potentiel d'adaptation au milieu ambiant et par son acquisition rapide de résistances aux antibiotiques (Mérens *et al.*,2011).

#### **III.2.5. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* est une bactérie Gram positive ubiquiste et saprophyte, c'est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme (Vincenot *et al.*, 2008).

Elle provoque un large éventail de maladies comme la septicémie, la méningite, l'endocardite, l'ostéomyélite et le syndrome du choc toxique, c'est un agent pathogène majeur pour l'homme (Wertheim *et al.*, 2005). Elle est également l'un des principaux agents responsables des intoxications alimentaires (Le Loir *et al.*, 2003). Elle représente le deuxième agent pathogène responsable des infections nosocomiales après *E. coli* (Vincenot *et al.*, 2008).



# **Chapitre II : Matériels et méthodes**

## I. Matériel biologique

### I.1. Algue étudiée et la zone d'échantillonnage

L'algue rouge de l'espèce *Asparagopsis armata* a été récoltée à une profondeur d'environ 50 m de la surface d'eau de mer de la plage Salamandre de la Wilaya de Mostaganem le mois de Mars 2022 (Figure 4 et 5). Les échantillons d'algue sont séchés à température ambiante et à l'abri de la lumière.



**Figure 4 :** Photo illustrant *Asparagopsis armata* avant le séchage.



**Figure 5 :** Côte marine Salamandre de la région de la région de collecte (Google map, 2023).

## I.2. Souches bactériennes et les souches fongiques

Les souches microbiennes ayant fait l'objet de cette étude font parties de trois groupes de microorganismes (Tableau 2).

Le choix des microorganismes a été porté sur huit souches microbiennes. Cinq d'entre-elles sont fréquentes en pathologies humaine et animale, appartenant à différentes familles (deux bactéries à Gram négatif, trois bactéries à Gram positif) et trois champignon phytopathogènes.

Nous avons choisi de tester nos extraits sur ces souches bactériennes parce qu'elles sont les agents pathogènes les plus fréquemment impliquées dans les infections humaines.

**Tableau 2** : Souches microbiennes, et leurs références.

| Les souches bactériennes      |   | Les souches fongiques                     |
|-------------------------------|---|---|
| Gram négative                 | Gram positive                               |   |
|                               |   | <i>Aspergillus carbonarius</i><br>M 333   |
| <i>Escherichia coli</i>       | <i>Bacillus subtilis</i><br>ATCC 6633       | <i>Aspergillus flavus</i><br>NRRL 3251    |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Staphylococcus aureus</i><br>MRSA 639c   | <i>Aspergillus ochraceus</i><br>ATCC 3174 |
|                               | <i>Listeria monocytogenes</i><br>ATCC 13932 | <i>Penicillium glabrum</i>                |

## II. Méthodes expérimentales

### II.1. Préparation des extraits d'algues

L'algue a été rincé par l'eau de mer pour éliminer les épiphytes, les nématodes et toute autre matière suspendue. Ensuite, les crampons sont enlevés et découpés en petits morceaux, puis séchés à température ambiante à l'abri de la lumière. L'algue séchée est broyée à l'aide d'un Broyeur.

- **Extraction**

10 g de la poudre d'algue est introduit dans des erlenmeyers, chacune contenant 100 ml d'un solvant (Dichlorométhane, Méthanol, Hexane et Acétone).

Après 24 heures de macération à température ambiante et sous agitation (250 tpm), le contenu des erlenmeyers est filtré par papier Wattman N°1. Les filtrats obtenus sont évaporés à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Heidolph Hei-VAP réglé à une température entre 40 et 45 °C. Les résidus secs sont récupérés pour des concentrations finales différentes

et seront stockés à +4°C dans des flacons en verre hermétiquement fermés (2 flacons pour chaque extrait) jusqu'au moment de leur utilisation.

## **II.2. Calcule du rendement**

Le rendement des extraits est le rapport entre le poids de la plante étudiée et le poids de l'extrait (Carré, 1953 *In* Mohammedi, 2006). Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$T = P_b / P_a \times 100$$

Où :

**T** : Rendement de l'extrait (%)

**P<sub>b</sub>** : masse de l'extrait (g)

**P<sub>a</sub>** : masse de la plante (g)

## **II.3. Criblage phytochimique**

### **II.3.1. Les phénols**

25µl FeCl<sub>3</sub> (2%) est ajouté à 0.5 ml de l'extrait dilué. La présence des phénols est indiquée par l'apparition de couleur bleu ou vert (Jaradat *et al.*, 2015).

### **II.3.2. Flavonoïdes**

0.5 ml de chaque extrait a été mélangé avec un volume de 0,2 ml de la solution de NaOH à 10 %. La présence des flavonoïdes est indiquée par la formation d'une couleur jaune intense (Lerato *et al.*, 2017).

### **II.3.3. Les tanins**

2 ml de l'extrait diluée est mélangé avec 100 µl de FeCl<sub>3</sub> (1%). L'apparition d'une coloration bleu-vert (tanins galliques), vert foncé (tanins cathéchiques) (El-Haoud *et al.*, 2018).

### **II.3.4. Terpénoïdes**

0.5 ml d'extrait a été ajouté à 0.2 ml de chloroforme et 0.1 ml d'acide sulfurique. L'apparition d'une couleur brune rougeâtre indique la présence des Terpénoïdes (Doss, 2009).

### **II.3.5. Les Alcaloïdes**

0.5 ml de chaque extrait a été ajouté à 0.5 ml de (HCl 1 %). Ce mélange a été ensuite chauffé pendant 20 minutes., un volume de 1 ml de réactif de Mayer (voir annexe B5) a été ajouté goutte à goutte après le refroidissement du mélange. La formation d'un précipité verdâtre ou blanchâtre indique la présence des alcaloïdes (Lerato *et al.*, 2017).

### II.3.6. Les saponosides

5 gouttes d'eau distillée est ajouté à 0.25 ml d'extrait diluée puis fortement agitée. Ensuite le mélange est abandonné pendant 20 min. La teneur en saponosides est évaluée par la présence de mousse :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (Trease et Evans, 1987).

### II.3.7. Les glucosides cardiotoniques

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani, 0.5 ml d'extrait et 1 ml acide acétique glacial, 50µl de FeCl<sub>3</sub> (5%) et 0.5 ml d'acide sulfurique. La présence des glucosides cardiotoniques est confirmée par la formation de deux phases, une sous forme d'un anneau colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en verdâtre (acide sulfurique) (Doss, 2009).

### II.3.8. Anthocyanine

0.5 ml de chaque extrait a été ajouté aux volumes de 0,5 ml de HCl 2N et d'ammoniac. La présence des anthocyanines est indiquée par l'apparition d'une coloration rose-rouge qui se transforme en bleu-violet (Lerato *et al.*, 2017).

### II.3.9. Stéroïdes

2,5 ml de chloroforme et de 2,5 ml d'acide sulfurique ont été ajoutés au volume de 0,25ml de chaque extrait. La présence des stéroïdes est indiquée par un changement de couleur de violet à bleu ou vert ou formation d'un anneau bleu ou vert ou si la couche supérieure est devenue rouge et la couche sulfurique était jaune avec un vert fluorescent (Lerato *et al.*, 2017).

### II.3.10. Coumarines

- **Préparation de l'infusés :** La préparation de l'infusé consiste à additionner 5g de poudre végétale à 100 ml d'eau distillée bouillante. Après 20 min le mélange est filtré, et le filtrat obtenu est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée ;
- 0,8 ml de NaOH à 10% est ajouté à 0,5 ml de l'infusé et le mélange est agité. L'aspect jaune indique la présence de coumarines (Daira *et al.*, 2016).

### II.3.11. Composés réducteurs

0,25 ml de l'extrait avec 0,5 ml de la liqueur de Fehling A et B (0.25 ml de chacune) et puis les tubes sont chauffés dans le bain-marie à 40C°. La formation d'un précipité rouge brique confirme la présence des composés réducteurs (Jaradat *et al.*, 2015).

### II.3.12. Les acides aminés

50 µl d'extrait diluée est mélangé avec 1 ml ninhydrine (0.1%) préparée dans l'éthanol. Le mélange est Chauffé dans le bain marie. La présence des aminoacides est indiquée par l'apparition d'une couleur violette (Harborne, 1998).

### II.3.13. Mucilages

A 0.5 ml de la solution à analyser sont ajoutés 2.5 ml d'éthanol absolu. L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence de mucilage (Gogoi et Das, 2016).

### II.3.14. Stérois et triterpènes

2 g de la poudre végétale a été macérée dans un volume d'éthanol 70% pendant 24h. Après filtration et évaporation à sec le résidu obtenu a été dissout dans 20 ml de chloroforme.

#### ➤ Réaction de Liebermann Buchard

10 ml de la solution précédemment préparée a été évaporé à sec, le résidu obtenu a été dissout dans 5 ml d'anhydride acétique puis 5 ml de chloroforme. 1 ml d'acide sulfurique concentré (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a été ajouté au fond du tube sans agiter. Après 30 minutes, la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides révèlent la présence de stérois et triterpènes (Badiaga, 2011).

### II.3.15. Caroténoïdes

6g de la poudre végétale a été infusé dans 45 ml d'eau distillée, après filtration, 1 ml de filtrant a été ajoutée à 1 ml d'HCL et 1 ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. L'apparition d'une couleur vert-bleu indique la présence des caroténoïdes (Etudes rwandaises, 1977 in Kerrouri *et al.*, 2016).

### II.3.16. Glycosides cardiaques

2 ml de chloroforme est ajouté à 1 ml de l'extrait. Après l'ajout de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, l'apparition d'une coloration brune-rougeâtre confirme la présence des glycosides cardiaques (Mun Fei Yam *et al.*, 2009).

### II.3.17. Quinones libres

0,5 ml de l'extrait est mélangé avec quelques gouttes de NaOH (1%). La transformation de la couleur en rouge jaune ou violet indique la présence des quinones (Dohou, 2003).

## II.4. Activité antimicrobienne

Suite aux résultats de criblage phytochimique et les rendements de nos extraits, notre étude antimicrobienne est focalisée sur les deux extraits qui prouvé leur forte rendement (méthanol et le dichlorométhane), La mise en évidence du l'activité antimicrobienne de ces extraits, a été réalisée par des tests in vitro pour évaluer l'activité antibactérienne et antifongique.

### II.4.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des deux extraits (Dichlorométhane et Méthanol) a été testé vis-à-vis 5 bactéries : *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*.

#### II.4.1.1. Préparation des dilutions

Des différentes concentrations de chaque extrait ont été préparées en ajoutant l'émulsifiant Diméthylsulfoxyde (DMSO) selon les concentrations velues (Tableau 3).

**Tableau 3** : Différentes concentrations des extraits étudiées dans le test antibactérien.

| Extrait         | Les concentrations (mg/ml) par disque |   |   |     |      |
|-----------------|---------------------------------------|---|---|-----|------|
| Dichlorométhane | 4                                     | 2 | 1 | 0,5 | 0,25 |
| Méthanol        | 8                                     | 6 | 4 | 2   | 1    |

#### II.4.1.2. Méthode de diffusion

L'activité antibactérienne des extraits (DM et Méthanol) d'*A. armata* a été évaluée par la méthode de diffusion par disque en milieu solide décrite par Essawi et Srouf, (2000) ; Messahli *et al.*, (2022).

Les différentes souches bactériennes sont repiquées par la méthode des stries sur gélose nutritif, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. A partir de ces cultures jeunes, des colonies pures sont isolées pour préparer l'inoculum bactérien.

Des disques de papier filtre Whatman N°1 de 6 mm de diamètre ont été préparé et stérilisés par l'autoclave pendent 20 min à 120°C. Les disques stériles sont placés dans le milieu Mueller-Hinton précédemment ensemencé à l'aide d'un écouvillon par une suspension bactérienne préparée dans l'eau physiologique et ajustée à 10<sup>8</sup> cellules/ml (McFarland, 1907), par la suite les disques sont imprégnés par 15 µl des différentes concentrations d'extraits.

L'opération a été répétée 3 fois pour chaque dilution (3 ou 2 disques de la même dilution par boîte).

Un témoin négatif a été réalisé pour chaque souche en utilisant un disque imprégné de 15 µl de DMSO. Un antibiogramme qui sert comme un témoin positif de chaque germe étudié a été effectué. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h.

#### **II.4.1.3. Antibiogramme**

Des antibiogrammes ont été réalisés en parallèle afin de tester la sensibilité et la résistance des bactéries envers des antibiotiques (CLSI, 2023). Ils sont considérés comme contrôle positif (Tableau 4).

**Tableau 4 :** Antibiotiques choisis leurs codes et leurs concentrations.

| <b>L'antibiotique</b>             | <b>Le code</b> | <b>La concentration (µg)</b> |
|-----------------------------------|----------------|------------------------------|
| Acide fusidique                   | FC             | 10                           |
| Amikacine                         | AK             | 30                           |
| Amoxicilline + Acide clavulanique | AMC            | 30                           |
| Céfazoline                        | CZ             | 30                           |
| Céfotaxime                        | CTX            | 30                           |
| Chloramphénicol                   | C              | 30                           |
| Ciproflaxine                      | CIP            | 5                            |
| Clindamycine                      | DA             | 2                            |
| Erythromycine                     | E              | 15                           |
| Fosfomycine                       | FF             | 200                          |
| Gentamicine                       | CN             | 10                           |
| Ofloxacine                        | OFX            | 5                            |
| Oxacilline                        | OX             | 1                            |
| Pénicilline                       | P              | 10                           |
| Rifampicine                       | RA             | 5                            |
| Rifampicine                       | RD             | 30                           |
| Sulfaméthoxazole                  | SXT            | 25                           |
| Teicoplanine                      | TEI            | 30                           |
| Tétracycline                      | TE             | 30                           |
| Vancomycine                       | VA             | 30                           |

Après 24 heures d'incubation, l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits a été effectuée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un Caliper. La sensibilité des souches est estimée selon (Farid *et al.*, 2012) comme suit :

- Activité faible (résistante) : Diamètre < 10mm
- Activité moyenne (intermédiaire) : 10mm < Diamètre < 15mm
- Activité forte (sensible) : Diamètre > 15mm

#### II.4.2. Activité antifongique

L'activité antifongique des deux extraits (Dichlorométhane et Méthanol) a été testée sur les 4 champignons : *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium glabrum*.

##### II.4.2.1. Préparation des dilutions

Les dilutions de chaque extrait ont été préparées par l'ajout de la solution d'agar 0,2% selon les concentrations (Tableau 5).

**Tableau 5 :** Différentes concentrations des extraits étudiées dans le test antifongique.

| Extrait         | Les concentrations (mg/ml) |   |      |      |
|-----------------|----------------------------|---|------|------|
| Dichlorométhane | 3                          | 1 | 0,25 | /    |
| Méthanol        | 6                          | 3 | 1    | 0,25 |

##### II.4.2.2. Test antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique des extraits (DM et Méthanol) d'*Asparagopsis armata* a été effectuée par l'utilisation de la méthode du contact direct décrite par (Remmal *et al.*, 1993 ; Mohammedi et Atik, 2012).

Cette technique consiste à ajouter 1,5 ml d'extrait à différentes concentrations au 13,5 ml du milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) en surfusion à 45°C. Après homogénéisation par le vortex, les tubes sont versés dans des boîtes de pétri.

L'ensemencement a été réalisé par la disposition aseptiquement à la surface du milieu de culture au centre de la boîte de pétri du disque mycélien de 6 mm de diamètre pour chaque champignon provenant d'une culture de 6 jours.

Des témoins de chaque mycète composé de milieu de culture PDA et la solution d'agar 0,2 % sans extrait servent comme contrôle négative, ainsi que des témoins positive utilisant l'antifongique Nystatine (5 mg/ml) ont été préparés en parallèle.

L'incubation a été faite à 25°C pendant 6 jours en suivant la croissance par la mesure du diamètre mycélien afin de calculer le taux d'inhibition ( $I\%$ ) selon l'équation décrite par Cheng *et al.*, (2008) :

$$I\% = (Da - Db) / Da \times 100$$

Où :

**$I$**  : pourcentage d'inhibition exercé par l'extrait sur le mycélium (%)

**$Da$**  : Diamètre de mycélium témoin (mm)

**$Db$**  : Diamètre de mycélium (mm)

La lecture des résultats nous a permis d'estimer la CMI (la plus faible concentration en extrait pour laquelle on n'observe pas de croissance, visible à l'œil nu, sur le milieu PDA ; c'est une action fongistatique) après 6 jours d'incubation. Les résultats sont interprétés selon Kpemissi, (2007) comme suit :

- Souche très sensible : extrait très actif ( $75 < I \leq 100\%$ )
- Souche sensible : extrait actif ( $50 < I \leq 75$ )
- Souche limite : extrait moyennement actif ( $25 < I \leq 50$ )
- Souche peu sensible ou résistante : extrait peu ou pas actif ( $0 < I \leq 25$ )



# **Chapitre III : Résultats et discussion**

























# Conclusion

Dans le présent travail, notre étude cible l'algue rouge *Asparagopsis armata* récolté d'eau de mère de la plage Salamandre de la wilaya de Mostaganem au nord-ouest d'Algérie.

Nous avons précisé à travers ce mémoire, le rendement et les composés des extraits, ainsi que leur pouvoir antimicrobien (antibactérien et antifongique).

Le calcul du rendement des extraits a révélé que l'extrait méthanolique présente le meilleur rendement (8,83%) suivi par l'extrait de dichlorométhane (1,20 %) et enfin les extraits d'acétone et d'hexane avec un faible rendement (0,83 et 0,73%).

Le criblage phytochimique des deux extraits de dichlorométhane et méthanol basé sur des tests spécifiques a révélé la présence de composés phénoliques, flavonoïdes, terpénoïdes,. La teneur en ces composés a été élevée chez l'extrait de méthanol.

Les tests antimicrobiens de l'extrait méthanolique et de dichlorométhane ont permis de souligner une activité importante. L'étude du pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion par disques vis-à-vis les souches (*Escherichia coli*, , *Bacillus subtilis*, , *Listeria monocytogenes*), a révélé un effet inhibiteur élevé contre les bactéries Gram positives et moyen à faible contre les Gram négatives où certaines concentrations des extraits ont montré des zones d'inhibition égale ou plus large que celles rencontrées chez le test d'antibiogramme (témoins positives).

Le test antifongique réalisé par la méthode du contact direct contre les souches (*Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus flavus* et *Penicillium glabrum*) montre que les extraits sont actifs ou moyennement actifs contre les souches étudiées, notamment l'extrait méthanolique qui a présenté le meilleur effet avec une CMI de 6 mg/ml, un effet égal à celui de l'antifongique Nystatine.

D'après l'étude de l'activité antimicrobienne, les extraits de méthanol et de dichlorométhane de l'algue *Asparagopsis armata* possèdent une activité antibactérienne et antifongique plus performante chez (*B. subtilis*, *S. aureus*, *A. carbonarius* et *Penicillium glabrum*). Selon des études précédentes, cette activité est due à certains composés bioactifs et métabolites synthétisés par cette algue. De ce fait, il est intéressant d'approfondir l'étude sur les composés bioactifs d'*Asparagopsis armata* ou même d'autres algues s'intéressent plus sur la purification et l'identification de ces composés et leurs mécanismes de fonctionnement.

# Références bibliographiques

**Abarca, M. L., Bragulat, M. R., Castella, G., & Cabanes, F. (1994).** Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Applied and environmental microbiology*, 60(7), 2650-2652.

**ABDALLAH, R., Frikha, D., & SASSI, S. M. E. S. (2019).** EVALUATION IN VITRO DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE ET ANTIFONGIQUE DE QUATRE ESPECES ALGALES MARINES IN VITRO EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF MARINE ALGAE. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*, 38.

**Ainane, T. (2011).** *Valorisation de la biomasse algale du Maroc: Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes Cystoseira tamariscifolia et Bifurcaria bifurcata* (Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences Ben M'sik Université Hassan II Casablanca), 184p.

**Alves, C., Pinteus, S., Horta, A., & Pedrosa, R. (2016).** High cytotoxicity and anti-proliferative activity of algae extracts on an in vitro model of human hepatocellular carcinoma. *Springerplus*, 5(1), 1-13.

**Alves, C., Pinteus, S., Rodrigues, A., Horta, A., & Pedrosa, R. (2018).** Algae from Portuguese coast presented high cytotoxicity and antiproliferative effects on an in vitro model of human colorectal cancer. *Pharmacognosy Research*, 10(1), 24.

**Amaiike, S., & Keller, N. P. (2011).** *Aspergillus flavus*. *Annual review of phytopathology*, 49, 107-133.

**Andreakis, N., Procaccini, G., & Kooistra, W. H. (2004).** *Asparagopsis taxiformis* and *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales, Rhodophyta): genetic and morphological identification of Mediterranean populations. *European journal of phycology*, 39(3), 273-283.

**Aruoma, O. I. (1998).** Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists' society*, 75(2), 199-212.

**Atoui, A. (2006).** *Approche de la mycotoxinogenese chez Aspergillus ochraceus et Aspergillus carbonarius: Etudes moleculaire et physiologique* (Doctoral dissertation), 226p.

**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), 137p.

- Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S., & Lindequist, U. (2006).** Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, 252(1), 79-84.
- Becker, W. (2004).** Microalgae in human and animal nutrition, *Handbook of Microalgal Culture*, Blackwell, Oxford, 312-351.
- Bedoux, G., & Bourgougnon, N. (2015).** Bioactivity of Secondary Metabolites from Macroalgae. *The Algae World*, 391.
- Berg, R. D. (1996).** The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends in microbiology*, 4(11), 430-435.
- Beutin, L. (1999).** Escherichia coli as a pathogen in dogs and cats. *Veterinary research*, 30(2-3), 285-298.
- Bonin, D. R., & Hawkes, M. W. (1987).** Systematics and life histories of New Zealand Bonnemaisoniaceae (Bonnemaisoniales, Rhodophyta): I. The genus *Asparagopsis*. *New Zealand Journal of Botany*, 25(4), 577-590.
- Bouhlal, R., Hassane, R., José, M., & Nathalie, B. (2010).** The antibacterial potential of the seaweeds (Rhodophyceae) of the Strait of Gibraltar and the Mediterranean Coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology*, 9(38), 6365-6372.
- Bourgougnon, N. et Gervois, A. (2021).** *Les algues marines : biologie, écologie et utilisation*. Royaume-Uni: Editions Ellipses.
- Bringloe, T. T., Starko, S., Wade, R. M., Vieira, C., Kawai, H., De Clerck, O., ... & Verbruggen, H. (2020).** Phylogeny and evolution of the brown algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 39(4), 281-321.
- Brouard, J. S. (2011).** *Analyse comparative de génomes chloroplastiques et d'algues vertes de la classe chlorophyceae* (Thèse de Doctorat, Université Laval), 265p.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.
- Chbani, A., Mawlawi, H., & Etahiri, S. (2011).** Activité antibactérienne des extraits d'une algue brune *Padinapavonica* de la côte méditerranéenne au Liban. *Phytothérapie*, 9(5), 283-286.

- Cheng, S. S., Liu, J. Y., Chang, E. H., & Chang, S. T. (2008).** Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresource technology*, 99(11), 5145-5149.
- CLSI., 2023.** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; approved standard. 33<sup>rd</sup> Edition. CLSI supplement M100. *Clinical and Laboratory Standards Institute*.
- Combaut, G., Bruneau, Y., Codomier, L., & Teste, J. (1979).** Comparative sterols composition of the red alga *Asparagopsis armata* and its tetrasporophyte *Falkenbergia rufolanosa*. *Journal of Natural Products*, 42(2), 150-151.
- Cormier, A. (2015).** *Le modèle algue brune pour l'analyse fonctionnelle et évolutive du déterminisme sexuel* (Thèse de Doctorat, Paris 6), 211p.
- Cossus, L. (2021).** *Influence des agents phytopathogènes sur la production de lipopeptides et le protéome de Bacillus subtilis* (Thèse de Doctorat, Université Laval), 139p.
- Daira, N. E. H., Maazi, M. C., & Chefrou, A. (2016).** Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) de l'Est Algérien. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85(1), 276-290.
- Darcy-Vrillon, B. (1993).** Nutritional aspects of the developing use of marine macroalgae for the human food industry. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 44, S23-35.
- Dembitsky VM, Srebnik M (2002).** Natural halogenated fatty acids: their analogues and derivatives. *Prog Lipid Res* 41:315–367.
- Dixon, P. S., Irvine, L. M., Fletcher, R. L., Christensen, T., & Burrows, E. M. (1977).** *Seaweeds of the British Isles (Vol 1)*. British Museum (Natural History).
- Dohou, R., Yamni, K., Tahrouch, S., Hassani, L. I., Badoc, A., & Gmira, N. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142(1/4), 61-78.
- Doss, A. (2009).** Preliminary phytochemical screening of some Indian medicinal plants. *Ancient science of life*, 29(2), 12.
- El-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H., & Bengueddour, R. (2018).** Screening phytochimique d'une plante médicinale: *Mentha spicata* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 7, 226-233.

- Essawi, T., & Srour, M. (2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 70(3), 343-349.
- Farid, Y., Chennaoui, M., Assobhei, O., & Etahiri, S. (2012).** Screening des algues marines d'oualidia a la recherche d'activites antimicrobienne et anti-inflammatoire. *Revue de microbiologie industrielle, sanitaire, et environnementale*, 6, 192-209.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Feldmann, J. (1942).** Recherches sur les Bonnemaisoniacées et leur alternance de générations. *Ann. Sci. Nat. Bot. Series*, 11(3) : 75-175.
- Fleurence, J. (2022).** *Les algues en agrobiologie*. Royaume-Uni: ISTE Editions Limited.
- Fleurence, J. (2021).** *Les microalgues: de l'aliment du futur à l'usine cellulaire*. Royaume-Uni: ISTE editions.
- Floc'h, J. Y., & Véto-Leclerc, V. (2010).** Les secrets des algues. *Les secrets des algues*, 1-168.
- Folmer, F., Jaspars, M., Dicato, M., & Diederich, M. (2010).** Photosynthetic marine organisms as a source of anticancer compounds. *Phytochemistry Reviews*, 9, 557-579.
- Folmer, F., Jaspars, M., Solano, G., Cristofanon, S., Henry, E., Tabudravu, J., ... & Diederich, M. (2009).** The inhibition of TNF- $\alpha$ -induced NF- $\kappa$ B activation by marine natural products. *Biochemical pharmacology*, 78(6), 592-606.
- Fox, J. M., et Zimba, P. V. (2018).** Minerals and trace elements in microalgae. In *Microalgae in health and disease prevention* (pp. 177-193). Academic Press.
- Freter, R., Brickner, H., Fekete, J., Vickerman, M. M., & Carey, K. E. (1983).** Survival and implantation of Escherichia coli in the intestinal tract. *Infection and immunity*, 39(2), 686-703.
- Garon-Lardière, S. (2004).** *Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge Asparagopsis armata (Bonnemaisoniales)*. (Thèse de Doctorat, Université de Bretagne Occidentale, 2004), 226p.

- Gaubert, J. (2018).** *Caractérisation et sources de variation du métabolome: le cas de l'algue brune Lobophora des écosystèmes coralliens de Nouvelle-Calédonie* (Thèse de Doctorat, Sorbonne université), 329p.
- Genovese, G., Leitner, S., Minicante, S. A., & Lass-Flörl, C. (2013).** The Mediterranean red alga *Asparagopsis taxiformis* has antifungal activity against *Aspergillus* species. *Mycoses*, 56(5), 516-519.
- Genovese, G., Tedone, L., Hamann, M. T., & Morabito, M. (2009).** The Mediterranean red alga *Asparagopsis*: a source of compounds against *Leishmania*. *Marine drugs*, 7(3), 361-366.
- Glombitza, K. W., & Keusgen, M. (1995).** Fuhalols and deshydroxyfuhalols from the brown alga *Sargassum spinuligerum*. *Phytochemistry*, 38(4), 987-995.
- Gogoi, G., & Das, A. K. (2016).** Original Research Article Ethnomedicobotany And Phytochemical Screening Of *Garcinia pedunculata* Roxb. ex Buch.–Ham From Arunachal Pradesh, India. *Journal of Bioresources*, 3(1), 1-8.
- Gordon, D. M., & Cowling, A. (2003).** The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*, 149(12), 3575-3586.
- Goudable, J., & Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.
- Guedes, E. A. C., dos Santos Araújo, M. A., Souza, A. K. P., de Souza, L. I. O., de Barros, L. D., de Albuquerque Maranhao, F. C., & Sant'Ana, A. E. G. (2012).** Antifungal activities of different extracts of marine macroalgae against dermatophytes and *Candida* species. *Mycopathologia*, 174, 223-232.
- Guiry, M.D. in Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (25 October 2022).** *AlgaeBase*. World-Wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Accéder le 17 May 2023.
- Gutiérrez-Rodríguez, A. G., Juárez-Portilla, C., Olivares-Bañuelos, T., & Zepeda, R. C. (2018).** Anticancer activity of seaweeds. *Drug Discovery Today*, 23(2), 434-447.
- Güven, K. C., Percot, A., et Sezik, E. (2010).** Alkaloids in marine algae. *Marine Drugs*, 8(2), 269-284.
- Hait, W. N. (2010).** Anticancer drug development: the grand challenges. *Nature reviews Drug discovery*, 9(4), 253-254.

- Hamed, I., Özogul, F., Özogul, Y., & Regenstein, J. M. (2015).** Marine bioactive compounds and their health benefits: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 14(4), 446-465.
- Harborne, A. J. (1998).** *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. Springer science & business media.
- Hedayati, M. T., Pasqualotto, A. C., Warn, P. A., Bowyer, P., & Denning, D. W. (2007).** Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*, 153(6), 1677-1692.
- Heenan, C. N., Shaw, K. J., & Pitt, J. I. (1998).** Ochratoxin A production by Aspergillus carbonarius and A. niger isolates and detection using coconut cream agar. *Journal of food mycology*, 1(2):67-72.
- Holdt, S. L., & Kraan, S. (2011).** Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of applied phycology*, 23, 543-597.
- Horridge, G. A. (1951).** Occurrence of Asparagopsis armata Harv. on the scilly Isles. *Nature*, 167, 732-733.
- Jaradat, N., Hussen, F., & Al Ali, A. (2015).** Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of Ephedra alata Decne. *J. Mater. Environ. Sci*, 6(6), 1771-1778.
- Jiménez-Escrig, A., Jiménez-Jiménez, I., Pulido, R., & Saura-Calixto, F. (2001).** Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(5), 530-534.
- Kerrouri, S., Lrhorfi, L. A., Amal, S., Ouafae, E., abdellahi Lella, O., Bahia, B., & Rachid, B. (2016).** Qualitative study of bioactive components of dill (Anethum graveolens L.) from Northern Morocco. *European Scientific Journal*, 12(27).
- Khalifa, A. B. H., Moissenet, D., Thien, H. V., & Khedher, M. (2011).** Les facteurs de virulence de Pseudomonas aeruginosa: mécanismes et modes de régulations. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 69, No. 4, pp. 393-403).
- Kladi, M., Vagias, C., Furnari, G., Moreau, D., Roussakis, C., & Roussis, V. (2005).** Cytotoxic cuparene sesquiterpenes from Laurencia microcladia. *Tetrahedron Letters*, 46(34), 5723-5726.

**Kornprobst, J-M. (2005).** Substances naturelles d'origine marine : chimiodiversité, pharmacodiversité, biotechnologies. Tec & Doc Lavoisier, Paris.

**Kozlowski, P. A., Cu-Uvin, S., Neutra, M. R., & Flanigan, T. P. (1997).** Comparison of the oral, rectal, and vaginal immunization routes for induction of antibodies in rectal and genital tract secretions of women. *Infection and immunity*, 65(4), 1387–1394.

**Kpemissi Amana, E. (2007).** *Les Anacardiaceae du Togo: Etudes botaniques, écologiques et propriétés antifongiques* (Thèse de Doctorat, Reims).

**Kraan, S., & Barrington, K. A. (2005).** Commercial farming of *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniaceae, Rhodophyta) in Ireland, maintenance of an introduced species?. *Journal of Applied Phycology*, 17, 103-110.

**Le Gall, L. (2012).** *Evolution & Systématique des algues rouges* (Thèse de Doctorat, Université Pierre & Marie Curie-Paris 6), 65p.

**Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003).** Staphylococcus aureus and food poisoning. *Genetics and molecular research : GMR*, 2(1), 63–76

**Le Pogam, P., Chollet-Krugler, M., & Boustié, J. (2015).** Présentation des métabolites secondaires lichéniques: de leur biosynthèse à leur rôle au sein du thalle lichénique. *Bull. Ass. fr. lichénologie*, 40.

**Lee, K. W., Heo, S. H., Lee, J., Park, S. I., Kim, M., & Shin, M. S. (2020).** Antimicrobial, antioxidative, elastase and tyrosinase inhibitory effect of supercritical and hydrothermal *Asparagopsis armata* extract. *International Journal of Advanced Culture Technology (IJACT)*, 8(3), 231-240.

**Lemon, K.P., Earl, A.M., Vlamakis, H.C., Aguilar, C., Kolter, R. (2008).** Biofilm Development with an Emphasis on *Bacillus subtilis*. In: Romeo, T. (eds) *Bacterial Biofilms. Current Topics in Microbiology and Immunology*, vol 322. Springer, Berlin, Heidelberg.

**Lerat, Y. (2013).** Les algues spontanées, les algues cultivées et leurs utilisations. *Annales des Mines - Responsabilité et environnement*, 70, 31-35.

**Lerato, N.M, Takaidza, S., & Pillay, M. (2017).** Preliminary phytochemical screening of crude extracts from the leaves, stems, and roots of *Tulbaghia violacea*. *Int J Pharmacogn Phytochem Res*, 9(10), 1300-1308.

- Lima-Filho, J. V. M., Carvalho, A. F., Freitas, S. M., & Melo, V. M. (2002).** Antibacterial activity of extracts of six macroalgae from the northeastern Brazilian coast. *Brazilian journal of Microbiology*, 33, 311-314.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010).** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.
- Loison, P. (2013).** *Etude de la spore de Bacillus subtilis: caractérisation des structures impliquées dans sa résistance* (Thèse de Doctorat, Dijon), 183p.
- Machado, L., Magnusson, M., Paul, N. A., de Nys, R., & Tomkins, N. (2014). Effects of marine and freshwater macroalgae on in vitro total gas and methane production. *PLoS one*, 9(1), 0085289.
- Machado, L., Magnusson, M., Paul, N. A., Kinley, R., de Nys, R., & Tomkins, N. (2016).** Identification of bioactives from the red seaweed *Asparagopsis taxiformis* that promote antimethanogenic activity in vitro. *Journal of Applied Phycology*, 28, 3117-3126.
- Mandrekar, V. K., Gawas, U. B., & Majik, M. S. (2019).** Brominated molecules from marine algae and their pharmacological importance. *Studies in Natural Products Chemistry*, 61, 461-490.
- Marfaing, H. (2017).** *Qualités nutritionnelles des algues, leur présent et futur sur la scène alimentaire. Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52(5), 257–268.
- Marfaing, H., & Lerat, Y. (2007).** Les algues ont-elles une place en nutrition?. *Phytothérapie*, 5, 2-5.
- Mayer, A. M., & Hamann, M. T. (2005).** Marine pharmacology in 2001–2002: Marine compounds with anthelmintic, antibacterial, anticoagulant, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiplatelet, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 140(3-4), 265-286.
- McConnell, O., & Fenical, W. (1977).** Halogen chemistry of the red alga *Asparagopsis*. *Phytochemistry*, 16(3), 367-374.
- McFarland, J. (1907).** The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*, 49(14), 1176-1178.

- McLauchlin, J. (1997).** The identification of *Listeria* species. *International journal of food microbiology*, 38(1), 77-81.
- Mérens, A., Delacour, H., Plésiat, P., Cavallo, J. D., & Jeannot, K. (2011).** *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Revue francophone des laboratoires*, 2011(435), 49-62.
- Messahli, I., Gouzi, H., Sifi, I., Chaibi, R., Rezzoug, A., & Rouari, L. (2022).** Anticandidal activity of dichloromethane extract obtained from the red algae *A. armata* of the Algerian coast. *Acta Ecologica Sinica*, 42(5), 461-466.
- Mohammedi, Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. *Mémoire de Magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen*. 105p.
- MOHAMMEDI, Z., & ATIK, F. (2012).** Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Revue «Nature & Technologie»*, n, 6, 34-39.
- Mollo, P., et Noury, A. (2013).** *Le Manuel du plancton* (Vol. 195). ECLM.
- Morand, A., & Morand, J. J. (2017).** *Pseudomonas aeruginosa* en dermatologie. In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* (Vol. 144, No. 11, pp. 666-675). Elsevier Masson.
- Namvar, F., Baharara, J., & Mahdi, A. A. (2014).** Antioxidant and anticancer activities of selected Persian Gulf algae. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 29, 13-20.
- Neethu, P. V., Suthindhiran, K., & Jayasri, M. A. (2017).** Antioxidant and antiproliferative activity of *Asparagopsis taxiformis*. *Pharmacognosy research*, 9(3), 238.
- Netz, N., & Opatz, T. (2015).** Marine indole alkaloids. *Marine drugs*, 13(8), 4814-4914.
- Nevarez, L., Vasseur, V., Le Dréan, G., Tanguy, A., Guisle-Marsollier, I., Houlgatte, R., & Barbier, G. (2008).** Isolation and analysis of differentially expressed genes in *Penicillium glabrum* subjected to thermal stress. *Microbiology*, 154(12), 3752-3765.
- Okuzumi J, Takahashi T, Yamane T, et al. (1993).** Inhibitory effects of fucoxanthin, a natural carotenoid, on N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced mouse duodenal carcinogenesis. *Cancer Lett* 68: 159-68
- Pasquet, V. (2011).** *Recherche bioguidée de molécules anticancéreuses issues de microalgues marines* (Thèse de Doctorat, Université de La Rochelle), 202p.

- Paul, N. A., de Nys, R., & Steinberg, P. D. (2006).** Chemical defence against bacteria in the red alga *Asparagopsis armata*: linking structure with function. *Marine Ecology Progress Series*, 306, 87-101.
- Pérez, M. J., Falqué, E., & Domínguez, H. (2016).** Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. *Marine drugs*, 14(3), 52.
- Perez, R., Kaas, R., Campello, F., Arbault, S., et Barbaroux, O. (1992).** La culture des algues marines dans le monde. Plouzanné, France : IFREMER, 614p.
- Pinteus, S., Alves, C., Monteiro, H., Araújo, E., Horta, A., & Pedrosa, R. (2015).** *Asparagopsis armata* and *Sphaerococcus coronopifolius* as a natural source of antimicrobial compounds. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31, 445-451.
- Pinteus, S., Lemos, M. F., Alves, C., Neugebauer, A., Silva, J., Thomas, O. P., ... & Pedrosa, R. (2018).** Marine invasive macroalgae: Turning a real threat into a major opportunity-the biotechnological potential of *Sargassum muticum* and *Asparagopsis armata*. *Algal research*, 34, 217-234.
- Pinto, D. C., Lesenfants, M. L., Rosa, G. P., Barreto, M. C., Silva, A. M., & Seca, A. M. (2022).** GC-and UHPLC-MS Profiles as a Tool to Valorize the Red Alga *Asparagopsis armata*. *Applied Sciences*, 12(2), 892.
- Pitt, J. I. (2000).** Toxigenic fungi and mycotoxins. *British medical bulletin*, 56(1), 184-192.
- Ponte, J. M., Seca, A. M., & Barreto, M. C. (2022).** *Asparagopsis* Genus: What We Really Know About Its Biological Activities and Chemical Composition. *Molecules*, 27(6), 1787.
- Price, J. H. (1986).** Seaweeds of the western coast of tropical Africa and adjacent islands: a critical assessment. IV. Rhodophyta (Florideae). 1. Genera AF. *Bull. Br. Natural history museum(Bot.)*, 15, 1-122.
- Remmal, A., Bouchikhi, T., Rhayour, K., Ettayebi, M., & Tantaoui-Elaraki, A. (1993).** Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *Journal of Essential Oil Research*, 5(2), 179-184.
- Revankar, S. G. (2021).** Non-Aspergillus Fungal Infections in Transplant Patients. In *Emerging Transplant Infections: Clinical Challenges and Implications* (pp. 1139-1153).

- Rhimou, B., Hassane, R., & Nathalie, B. (2013).** Antioxidant activity of Rhodophyceae extracts from Atlantic and Mediterranean Coasts of Morocco. *African Journal of Plant Science*, 7(3), 110-117.
- Riahi, R. C., Tarhouni, S., & Kharrat, R. (2011).** Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 88(1-4), 19.
- Richardson, M. D., & Warnock, D. W. (2012).** *Fungal infection: diagnosis and management*. John Wiley & Sons.
- Robyt, J. F. (1998).** *Essentials of carbohydrate chemistry*. Springer Science & Business Media. États-Unis: Springer New York.
- Rosset, R. (2001).** Croissance microbienne et froid. Étude du cas particulier de *Listeria monocytogenes*. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 185(2), 287-299.
- Rosset, R. (1993).** Sécurité alimentaire et froid: le problème des psychrotrophes. *Revue générale du froid (1935)*, 83(5), 16-18.
- Rouari, L., Gouzi, H., Ghermaoui, M., Benaceur, F., Kemassi, A., Merabti, B., ... & Chaibi, R. (2022).** First study of larvicidal activity of Algerian *Oudneya africana* extracts against *Culex pipiens* larvae. *Ukrainian Journal of Ecology*, 12(1), 65-70.
- Roussel, S., Leclercq, A., Santolini, J., Agbessi, A., Chenal-Francisque, V., Lailier, R., ... & Brisabois, A. (2012).** Surveillance des *Listeria monocytogenes* dans les aliments. *Bull. Epidemiol*, 50, 51-56.
- Ruiz, G. (2005).** *Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges* (Thèse de Doctorat, Limoges), 230p.
- Rybtke, M., Hultqvist, L. D., Givskov, M., & Tolker-Nielsen, T. (2015).** *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: community structure, antimicrobial tolerance and immune response. *Journal of molecular biology*, 427(23), 3628-3645.
- Saim, S., Sahnouni, F., Bouhadi, D., & Kharbouche, S. (2021).** The antimicrobial activity of two marine red algae collected from Algerian West coast. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 7(4), 233-242.
- Salvador, N., Garreta, A. G., Lavelli, L., & Ribera, M. A. (2007).** Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marina*, 71(1), 101-114.

**Spagnuolo, D., Giarratana, F., Nalbhone, L., Ziino, G., Minicante, S. A., Manghisi, A., ... & Giuffrida, A. (2021).** Antimicrobial activity of macroalgal extracts against several *Listeria monocytogenes* strains for the application in food production. *PHYCOLOGIA*, 60(2-4), 132-133.

**Svedelius, N. (1933).** *On the development of Asparagopsis armata Harv. and Bonnemaisonia asparagoides (Woodw.) Ag: A contribution to the cytology of the haplobiontic Rhodophyceae* (Vol. 9, No. 1).

**Tanniou, A. (2014).** *Etude de la production de biomolécules d'intérêt (phlorotannins, pigments, lipides) d'algues brunes modèles par des approches combinées de profilage métabolique et d'écophysiologie* (Thèse de Doctorat, Brest), 418p.

**Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E. (2010).** The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 8(3), 207-217.

**Téren, J., Varga, J., Hamari, Z., Rinyu, E., & Kevei, F. (1996).** Immunochemical detection of ochratoxin A in black *Aspergillus* strains. *Mycopathologia*, 134, 171-176.

**Trease, E., & Evans, W. C. (1987).** *Pharmacognosie*. (13th Edition). London, UK : Baillière Tindall, 832p.

**Varga, J., & Kozakiewicz, Z. (2006).** Ochratoxin A in grapes and grape-derived products. *Trends in Food Science & Technology*, 17(2), 72-81.

**Vairappan, C. S., Kawamoto, T., Miwa, H., & Suzuki, M. (2004).** Potent antibacterial activity of halogenated compounds against antibiotic-resistant bacteria. *Planta medica*, 70(11), 1087-1090.

**Van de Velde, F., & De Ruiter, G. A. (2002).** In A. Steinbüchel, S. DeBaets, & EJ VanDamme. *Biopolymers*, 6, 245

**Van de Velde, F., Knutsen, S. H., Usov, A. I., Rollema, H. S., & Cerezo, A. S. (2002).** <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C high resolution NMR spectroscopy of carrageenans: application in research and industry. *Trends in Food Science & Technology*, 13(3), 73-92.

**Vandermoten, S., Cusson, M., Francis, F., & Haubruge, E. (2008).** La biosynthèse des isoprénoïdes chez les pucerons: une cible potentielle de nouveaux bio-insecticides?. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 12(4).

**Verbruggen, H. (2020).** Phylogeny and evolution of the brown algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 39(4), 281-321.

**Vincenot, F., Saleh, M., & Prévost, G. (2008).** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires*, 2008(407), 61-69.

**Watanabe, F., Takenaka, S., Katsura, H., Masumder, S. Z. H., Abe, K., Tamura, Y., et Nakano, Y. (1999).** Dried green and purple lavers (Nori) contain substantial amounts of biologically active vitamin B12 but less of dietary iodine relative to other edible seaweeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(6), 2341-2343.

**Wertheim, H. F., Melles, D. C., Vos, M. C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H. A., & Nouwen, J. L. (2005).** The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet infectious diseases*, 5(12), 751-762.

**Yam, M. F., Ang, L. F., Ameer, O. Z., Salman, I. M., Aziz, H. A., & Asmawi, M. Z. (2009).** Anti-inflammatory and analgesic effects of *Elephantopus tomentosus* ethanolic extract. *Journal of acupuncture and meridian studies*, 2(4), 280-287.

**Yan X, Chuda Y, Suzuki M, et al. (1999).** Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biotechnol Biochem* 63: 605-7

**Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B., et Li, M. (2021).** Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: A review. *Antibiotics*, 10(3), 318.

**Zimmerli, B., & Dick, R. (1996).** Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment. *Food additives & contaminants*, 13(6), 655-668.

**Zubia, M., Fabre, M. S., Kerjean, V., & Deslandes, E. (2009).** Antioxidant and cytotoxic activities of some red algae (Rhodophyta) from Brittany coasts (France). *Botanica Marina* 52(3): 268-277.



# Annexes

## Annexes A

### Les résultats de tests phytochimiques



**Figure A1** : Le résultat de test des phénols.



**Figure A2** : Le résultat de test des alcaloïdes.

## Annexes B

### Les compositions des milieux de culture et de réactifs

#### 1. Potato dextrose agar (PDA)

|                            |           |
|----------------------------|-----------|
| Infusion de pomme de terre | 200g      |
| Dextrose                   | 20g       |
| Agar                       | 20g       |
| Eau distillée              | 1L        |
| pH final                   | 5,6 ± 0,2 |

#### 2. Muller-Hinton agar (M-H)

|                       |           |
|-----------------------|-----------|
| Infusion de bœuf      | 300g      |
| Hydrolysat de caséine | 17,5g     |
| Amidon                | 1,5g      |
| Agar                  | 17g       |
| Eau distillée         | 1L        |
| pH final              | 7,3 ± 0,2 |

#### 3. Gélose nutritif

|                 |           |
|-----------------|-----------|
| Extrait de bœuf | 3g        |
| Peptone         | 5g        |
| Agar            | 15g       |
| Eau distillée   | 1L        |
| pH final        | 6,8 ± 0,2 |

#### 4. Solution d'agar 0,2%

|              |    |
|--------------|----|
| Agar-agar    | 2g |
| Eau distillé | 1L |

#### 5. Réactif de Mayer

|                   |         |
|-------------------|---------|
| KI                | 1g      |
| HgCl <sub>2</sub> | 0,2716g |
| Eau distillé      | 20ml    |

