REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

KHETTAOUI IMANE

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : BIOTHECNOLOGIE DES MICRO-ORGANISMES

THÈME

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DE L'ALGUE VERTE *CAULERPA RACEMOSA* DE LA CÔTE-MOSTAGANÉMOISE

Soutenu le : 04/07/2016

DEVANT LE JURY

Président	Bekkada Ahmed	Professeur	Centre universitaire de Tissemsilt
Examinatrice	Benouared Fouzia	MCB	Université de Mostaganem
Encadreur	Belkacemi Louiza	MCA	Université de Mostaganem

Année universitaire 2015-2016

Dédicace

A mes chers parents pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement

A mon unique frère Amine

A mes sœurs Sabrine,ikram et loubna

A mes proches amies khadidja, imane, nasima, hasna , hayet, hichem

A mes collègues de la promotion et de laboratoire

A mes enseignants

A toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Merci

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu, le tout puissant, qui m'a donné la force et la patience pour la réalisation de ce travail

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à Mme Belkacemi Louiza, maitre de conférences B à l'université Abd el Hamid Ibn Badis pour avoir accepté de m'encadrer et me diriger avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle m'a accordée pour permettre de réaliser ce travail.

J'adresse aussi mes sincères remerciements à MBekkada Ahmed, professeur à centre universitaire de Tissemsilt de nous faire l'honneur d'accepter de présider le jury.

Je tiens également à remercier M^{me}Benouared Fouzia maitre de conférence A à l'université Abd el Hamid Ibn Badis pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Je tiens vivement à présenter mes sincères remerciements à M^{r}Belalia ,chef de département de chimie à l'université Abd el hamid ben Badis pour son soutien et son aide permanent pour ses conseils scientifiques durant mon parcours de recherche.

A Mr Bouderoua Kaddour, professeur à l'université Abd el Hamid Ibn Badis et directeur de laboratoire de technologie alimentaire et de nutrition qui a mis son laboratoire à notre disposition pour effectuer une partie de ce travail et de son chaleureux accueil au sein de son équipe .

Je tiens vivement à remercier Melle.BennamaR, Maître de Conférences à l'Université Abd el Hamid Ibn Badis de Mostaganem, de m'avoir orienté vers le bon chemin de la Microbiologie, ses enseignements et ses conseils.

Je remercieM^{r} ARABI .A pour son aide et ses conseils.

Je remercie aussi mes chers parents, qui m'ont élevés, éduqués, aidés, soutenus orientés, bien conseillés et transmis la volonté de réussir.

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à laréalisation de ce travail.

Résumé

L'objectif de cette étude est la valorisation de l'algue verte invasive C*aulerpa*racemosaà travers une étude phytochimique et antibactérienne de différents extraits de cette algue.

Caulerparacemosa a été collecté au niveau de la côte mostaganémoise entre le mois d'avril et juin. Les extraits organiques ont été obtenus selon la méthode soxhlet en utilisant six solvants (méthanol, Hexane, Ethanol, Ether de pétrole, Chloroforme et l'Acétone).Un screening phytochimique, une évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne ont été réalisés.

Lemeilleur rendementa été enregistré par l'acétone (13.02%) et le plus faible (2.22%) par l'extraction à l'éther de pétrole. Les tests phytochimiques qualitatifs montrent une richesserelative de tous les extraits bruts en polyphénols particulièrement en flavonoïdes. L'extrait brut de chloroforme s'avère le plus riche en métabolites secondaires tels que lestanins, les stéroïdes, les alcaloïdes et les coumarines.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur six souches bactériennes (gram positif et gram négatif), selon la méthode de diffusion de disque. L'extrait de chloroforme et l'ether de pétrole montent une activité inhibitrice vis-à-vis de toutes les bactéries testés et avec toutes les concentrations utilisées. Cependant, *Klebsiellasp*résiste presque à tous les extraits. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 montre une sensibilité vis-à-vis de tous les extraits.

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction de radical libre DPPH.L'CI_{50}a été estimée à1,98 mg/ml et 77,72 mg/ml pour les extraits de chloroforme, l'extrait éthanol respectivement.

Enfin, l'algue verte *Caulerparacemosa* présente un potentiel antioxydant et antibactérien intéressant pour être exploités.

Mots clés:*Caulerparacemosa*, DPPH,activité antibactérienne,tests phytochimiques.

Abstract

This study aims to valorize the invasive green alga *Caulerparacemosa* through a phytochemical and antibacterial study of various extracts of this alga.

Caulerparacemosa was collected at the Mostagenem coast between April and June. The organic extracts were obtained according to the Soxhlet method, using six solvents (methanol, hexane, ethanol, petroleum ether, chloroform and acetone). A phytochemical screening, evaluation of the antioxidant and antibacterial activity were carried out.

The best yield was recorded by acetone (13.02%) and the lowest one (2.22%)by petroleum ether extraction. Qualitative phytochemical tests show the richness of all crude extracts in polyphenol and particularly in flavonoids. The chloroform crude extract was the richestone in several secondary metabolites like tannins, steroids, alkaloids, and coumarins.The antibacterial activity was determined in six bacterial strains (gram positive and gram negative), depending on the disc diffusion method. The chloroformand petroleum ether extracts exhibit the best inhibitory activity against all the tested bacteria and the tested concentrations. However, *Klebsiellasp* resists to almost all extracts. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 shows sensitivityto whole extracts.The antioxidant activity was evaluated using the free radical DPPH reduction method. The test CI50was estimated to 1.98 mg / ml and 77.72 mg / ml for the chloroform and the ethanolextract respectively.

Finally, the green alga *Caulerparacemosa* has an interesting antioxidant and antibacterialpotential to be exploited.

Keywords: *Caulerparacemosa*, DPPH, antibacterial activity, phytochemical tests.

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius	**UFC**: Unité Formant Colonie
%:Pourcentage	**ATCC:** American type culture collection
ml : Millilitre	**HPLC :** Chromatographie en phase
µl : Microlitre	liquide haute performance
h:Heure	**DMSO:** Diméthylsulfoxyde
min : Minute	**ADH** : Arginine dihydrolase
m : Mètre	**CI50**: Concentration inhibitrice à 50%.
mm : Millimètre	**DPPH:** 2, 2- diphenyl-1- picrylhydrazyl.
µm: Micromètre	**MeOH** : Méthanol
nm : Nanomètre	
Km : Kilometre	
g : gramme	
mg: Milligramme	
UV : Ultra-violet	

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 1	Représentation schématique d'une macro-algue verte	2
Figure 2	Thalle de la *Caulerpa racemosa* invasive du golfe du Marseille (30 m)	5
Figure 3	Première identification de *Caulerpa racemosa* en Libye en 1991 (flèche) et localisations déterminées depuis (points) en Méditerranée et aux îles Canaries.	3
Figure 4	Les cibles d'action des antibiotiques	13
Figure 5	Thalle fraiches de *Caulerpa racemosa*	19
Figure 6	Montage de**Soxhlet**	20
Figure 7	Evaporateur rotatif typeBUCHI R-200.	20
Figure 8	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant	25
Figure 10	Test catalase	28
Figure 11	Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923	29
Figure 12	Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Escherichia coli* ATCC 25922	30

Figure 13	Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Klebsiella sp*	30
Figure 14	Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Klebsiella sp*	31
Figure 15	Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*	31
Figure 16	Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Enterococcus faecalis*	32
Figure 17	Valeurs des IC50 trouvées pour les différents extraits de *Caulerpa racemosa*	33

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau I	Classification des antibiotiques	13
Tableau II	Souches utilisées dans le test antimicrobienne	21
Tableau III	Liste des antibiotiques testes sur les bacteries	23
Tableau IV	Aspect, couleur et rendement de différents extraits de caulerpa racemosa	27
Tableau V	Résultats des tests photochimiques sur les extraits de *caulerpa racemosa* selon des déférents solvants	33

Sommaire

Dédicace……i
Remerciements……..ii
Résumé……..…iii
Liste des abréviations……...…iv
liste des figures……v
Liste des tableauxviii…….vii
Introduction……...1
1- Généralités sur les algues ……2
1.1-Définition……...…2
1.1.2. Structure des macroalgues ……..…..2
1.1.3. Classification des algues……..…….....3
1.1.3.1.Les Chlorophycees (algues vertes)……..……3
1.1.3.2. Les Rhodophycées (algues rouges)…….....3
1.1.3.3. Les Phéophycées (algues brunes)……..…3
1.1.3.4. Les Cyanophycées (algues bleues)……...….3
1.1.4. Rôle des algues……..……..3
1.1.4.1. Extraits à activité antimicrobienne……....……4
1.1.4.2. Extraits à activité antivirale…….……..……..4
1.1.4.3. Extraits à activité anti-thrombotique…….…….5
1.2. Présentation d'algue étudiée……...… 5
1.2.1.Espèce*Caulerparacemosa* ……..……..……..*5*
1.2.1.1. Description…….....5
1.2.1.2. Classiffication de *Caulerpa* ……6
1.2.1.3.Habitat……...…….6
1.2.1.4. Impacts écologiques……..6
1.2.1.5. Distribution……6
a. Distribution de *Caulerpa racemosa* en Méditerranée…….6
b. Distribution de *Caulerpa racemosa* sur le littoral algérien.....7
2.1. L'espèce *Escherichia coli*……...…….8
2.1.1. Caractéristiques…….……..……..…8
2.1.2. Le pouvoir pathogène……..……....8

2.2.L'espèce de*Salmonella sp*……..……8
2.2.1.Caractéristiques…….…..…...8
2.2.2.Le pouvoir pathogène…….…..…...8
2.3.Le genre *Klebsiella ssp*…….…….……9
2.3.1.Caractéristiques…….……..9
2.3.2. Le pouvoir pathogène …….…..….9
2.4. L'espèce de *Staphylocoques aureus*…….9
2.4.1.Caractéristiques…….. 9
2.4.2. Le pouvoir pathogène……...10
2.5. L'espèce*Enterococcus faecalis*…….……..10
2.5.1. Caractéristiques ……..……10
2.5.2. Le pouvoir pathogène……..….10
2.6. *Pseudomonas aeruginosa*……...…….……10
2.6.1. Caractéristiques…….……10
2.6.2. Le pouvoir pathogène ……...……11
3.1. Les antibiotiques……..……12
3.1.1. Définition…….……12
3.1.2. Les sources principales des antibiotiques…….……12
3.1.3. Mode d'action des antibiotiques…….…. 12
3.1.4. Les familles des antibiotiques ……..……13
3.2. Les métabolites secondaires……..…. 14
3.2.1. Les différentes classes de métabolites secondaires……..……14
3.2.1.1. Les polyphénols …….....14
a. Les flavonoïdes ……..……15
b. Les tanins…….. 15
c. Les coumarines…….… 15
d. Les quinones……..…15
3.2.1.2. Alcaloïdes ……...16
3.2.1.3. Terpènes……..….16
a. Triterpènoïdes et stéroïdes…….....16
b. Saponines …….……16
3.2.2. L'activité biologique des métabolites secondaires……16
3.2.2.1.Les composés phénoliques…….....16

a. Les flavonoïdes……17
b. Les tanins ……17
c. Les coumarines ……17
d. Les quinones……17
3.2.2.2. Les alcaloïdes……..18
3.2.2.3.Les terpénoïdes…… 18
1. Matériel végétal…….. 19
2. Identification botanique ……..19
3. Récolte et conservation des échantillons……19
4. Préparation des extraits bruts……...20
5. Calcul du rendement des extraits……20
6. Etude du pouvoir antibactérien……21
6.1. Préparation des extraits ……21
6.2. Préparation des disques ……..21
6.3. Souches testées……21
6.3.1. Confirmation des souches……21
6.3.1.1. La coloration de Gram ……..21
6.3.1.2. Test de la catalase……22
6.4. Conservation des souches……22
6.5. Milieux de culture utilisés……22
6.6. Préparation de l'inoculum……22
6.7. Ensemencement…….…… 22
6.8. Application des disques…….……..22
6.9. Antibiogramme……23
6.10. Incubation et lecture……...23
7. Testsphytochimiques…….…..23
7.1. Les composés polyphénoliques……..24
7.1.1. Les flavonoïdes……24
7.1.2. Les tanins……24
7.1.3. Les coumarines……24
7.1.4. Alcaloïdes…… 24
7.1.5. Les saponines (Test de mousse)……24
7.1.6. Les quinones…… 24
7.1.7.Les Stérols et triterpènes ……..…..24

7.1.8. Les Anthraquinones……25
7.1.9. Test des sucres……..25
8. Le pouvoir anti radicalaire par la méthode au DPPH…… 25
8.1. Mode opératoire…….25
8.2. Evaluation du potentiel anti-radicalaire par le calcul de l'IC50……..26
Résultals et discussion……27
1. Rendement d'extraction…….27
2. Etude du pouvoir antimicrobienne……27
2.1. Confirmation des souches…….……27
2.2. Pouvoir antibactérien des extraits……..28
2.2.1. Effet des extraits sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923……...29
2.2.2. Effet des extraits sur *Escherichia coli* ATCC 25922 ……....29
2.2.3. Effet des extraits sur *Klebsiella sp*..……..30
2.2.4. Effet des extraits sur *Salmonella sp* ……..…….30
2.2.5. Effet des extraits sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853……..31
2.2.6. Effet des extraits sur *Enterococcus faecalis*……...…32
3. Tests phytochimique……..32
4. Evaluation de l'IC50…….....33
Discussion…….35
Référance Bibliograhraphiques……..…40
Annexe……..52

INTRODUCTION

Introduction

Ces dernières années, il y a eu un grand intérêt pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens, due à une augmentation alarmante du taux des infections avec les microorganismes résistant aux antibiotiques. Une des approches courantes pour la recherche des substances biologiquement actives est le criblage systématique des micro-organismes ou de plantes terrestres et marines**(Prasad & Seenayya, 2000),**qui sont des sources de beaucoup d'agents thérapeutiques utiles.

Parmi les organismes marins, les macroalgues occupent une place importante en tant que source de composés biomédicaux **(Selvin &Lipton, 2004, Manille *et al.*, 2010).** Environ 2400 produits naturels ont été isolés de macroalgues appartenant aux classes Rhodophyceae, Phaeophyceae et Chlorophyceae **(Faulkner, 2001).** Les algues appelées médicinales sont riches en métabolites secondaires qui incluent des alcaloïdes, des glycosides, des flavonoïdes, des saponines, des tanins, des stéroïdes, et d'autres métabolites actifs qui sont d'une grande valeur médicinale et qui ont été largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique **(Eluvakkal *et al.*, 2010).** Récemment, leur valeur comme source de substances bioactives nouvelles a augmenté rapidement et les chercheurs ont montré que les algues marines sont à l'origine de composés à diverses activités biologiques **(Kim &Wijesekara,Wijesekara *et al.*, 2011).**

L'Algérie, pays connu par ces ressources marinesnaturelles, avec un littorale de 1200Km, est une source potentiel d'algues marines pouvant être valorisées.

Pour notre part, notre choix s'est porté sur *Caulerparacemosa*, une algue verte qui appartientde la famille des Caulerpaceae, introduite accidentellement sur notre littoral.

Notre objectif est de mettre en évidencel'efficacité de différents extraits de cette algue vis-à-vis de quelques bactéries pathogènes, avec une étude phytochimiques et antioxydant de différents extraits de cette algue locale (Mostaganem).

Chapitre I

Généralités sur les algues

1- Généralités sur les algues

1.1-Définition

Les Algues, ou Phéophytes (du grec. phukos = algue ; phuton = plantes), sont des Thallophytes chlorophylliens, c'est- à-dire des organismes capables de photosynthèse. Elles sont donc autotrophes. Les Algues sonttypiquementdes organismes aquatiques **(Roland & Vian,1999**).Elles peuvent être libres ou fixes sur un support, leur taille varie de moins d'un micromètretelque l'algue *Prochlorococcus*(0.5 µm) à plusieurs dizaines de mètres pour les *Macrocystis* (60 mètres) **(Leclerc, 2010).**Les Algues ont des couleurs variées dues à la présence des pigments masquant plus ou moins le chlorophylle. Ce caractère conduit à subdiviser le groupe en trois grandes lignées qui s'opposent par un ensemble de caractères biochimiques, structuraux et fonctionnels : les algues Vertes, les algues Brunes et les algues Rouges.

1.1.2. Structure des macroalgues

Les macroalgues sont constituées à leur base par des crampons, leurs permettant de se fixer sur un support. Elles absorbent les nutriments par toute la surface du thalle en contact avec l'eau. Les crampons sont surmontés d'un pédoncule de longueur et de diamètre variable, le stipe. L'algue se termine par une fronde qui peut être découpée en filaments, cordons ou lanières **(Hortense, 2011).**

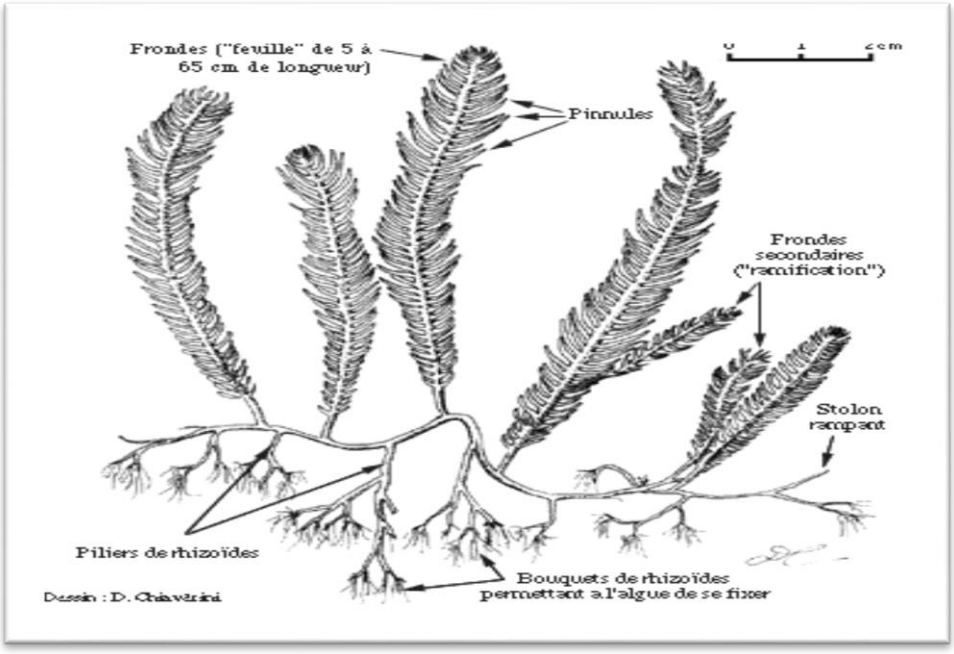

Figure 1: Représentation schématique d'une macro-algue verte **(Person, 2011).**

1.1.3. Classification des algues

Selon leur pigmentation, les algues sont divisées en trois groupes : les chlorophycées, les rhodophycées et les phéophycées **(Pascher, 1931).**

1.1.3.1.Les Chlorophycees (algues vertes)

Ils jouent un rôle important dans I 'oxygénation des eaux. Elles sont de formes très variées, uni- ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, aux qu'elles sont associés aux carotènes et xanthophylles **(Sandrine, 2004).**

1.1.3.2. Les Rhodophycées (algues rouges)

Les rhodophytes ou algues rouges forment un groupe très diversifié. Ces algues doivent leur couleur à la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles. La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, mais il existe quelques formes unicellulaires et quelques-unes qui vivent également en eau douce. Les algues rouges sont divisées en deux groupes : celui des Bangiophycées (qualifiées de primitives) et celui des Floridéophycées (plus complexes). Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe **(Sandrine, 2004).**

1.1.3.3. Les Phéophycées (algues brunes)

Ils sont de structure généralement pluricellulaire et de dimensions très variables, la majorité de ces algues vivent en milieu marin et présentent une couleur brunâtre résultant de l'association de pigments dominants, à savoir la xanthophylle et la fucoxanthine **(Guillaume, 2010).**

1.1.3.4. Les Cyanophycées (algues bleues)

Les cyanobactéries ou les algues bleues sont constituées des colonies de taille, de forme et de couleur très variables. Comme les algues rouges, elles possèdent des pigments surnuméraires bleus (Phycocyanines) et rouges (Phycoérythrines) qui masquent la chlorophylle a. En dépit de leur nom ancien d'algues bleues, elles sont rarement bleues mais plus souvent rouges, vertes avec des reflets bleutés, violets, bruns, jaunes ou orangés. Laplupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse voire gluante en raison des mucilages qu'elles sécrètent. **(Ainane, 2011).**

1.1.4. Rôle des algues

L'importance des algues dans le milieu aquatique est due à leur situation à la base du cycle biologique existant dans l'eau. Elles constituent le point de départ de la chaîne alimentaire qui aboutit aux peuplements piscicoles exploités par l'homme. Utilisant l'énergie

lumineuse, elles sont, quelques bactéries mises a part, les seuls organismes qui synthétisent des hydrates de carbone et de la matière organique A partir des éléments minéraux dissous dans le milieu. Les algues ont la capacité de libérer l'oxygène contenu dans la molécule d'eau, grâce au processus de la photosynthèse. L'oxygène ainsi libéré participe ensuite à la respiration des organismes aquatiques**(Aneiltis,1974).**

Les algues représentent une source de substances polymériques actives, mise en évidence par de nombreux travaux de recherche. Les potentiels thérapeutiques de certaines de ces substances sont extrêmement prometteurs notamment comme agents antimicrobiens, agents antiviraux ou pour leurs activités envers certaines pathologies. **(Nakajima *et al.*,2009)** ont ainsi mis en évidence un composé extrait d'une algue verte marine, le diméthylsulfoniopropionate, qui présente des potentialités anticancéreuses. Certains hétéropolysaccharides sulfatés matriciaux, comme les fucoïdanes, sont également appropriés pour lutter contre les processus de formation et de croissance de tumeurs malignes **(Boisson-Vidal *et al.*,2007).**

1.1.4.1. Extraits à activité antimicrobienne

Les algues, qu'elles soient macro- ou microscopiques, sont riches en molécules à activités antimicrobiennes. De nombreux travaux se sont intéressés à l'activité antimicrobienne d'extraits riches en différents polymères matriciels. Cependant, toutes ces approches ne caractérisent que l'activité de mélanges et non de molécules pures **(Ktari*et al,*2010).**

Dans ce sens, des études réalisées sur quatre espèces d'algues *Pterosiphoniacomplanata, Chondriadasyphylla*(algues rouges), *Spatoglossumschroederi*(algue brune) *et Enteromorpha compressa* (algue verte), ont montré que les différents extraits présentaient une activité significative à l'encontre de la souche *Staphylococcus aureus* **(El Kouri*et al,*2004).**

1.1.4.2. Extraits à activité antivirale

Les algues marines représentent également une source naturelle d'agents antiviraux **(Ponce *et al.*,2003).** Différents travaux de recherche ont permis de détecter des activités antivirales aussi bien chez des macro- que des micro-algues. Des études menées sur des extraits de l'algue *Laminariaabyssalis*ont permis d'identifier le caractère antiviral des échantillons à l'encontre du virus de l'herpes simplex (HSV)**(Santos *et al.*,1999)**avait mis en évidence l'activité anti-HSV d'un xylomannane sulfaté extrait de *Scinaiahatei*. D'autres travaux ont montré que des extraits, riches en lipides sulfatés **(Gustafson, 1989)** ou en

polysaccharides **(Baba *et al.*,1990 ; Queiroz*et al.*,2008)** de certaines algues présentaient d'intéressantes activités antivirales, en particulier vis-à-vis du Virus de l'Immunodéficience Humaine de type 1 (VIH 1).

1.1.4.3. Extraits à activité anti-thrombotique

les algues marines sont une source de polysaccharides sulfatés présentant d'intéressantes propriétés anticoagulantes **(Mao *et al.* 2005).(Hayakawa*et al.*,2000)** ont montré que huit polysaccharides sulfatés isolés de Chlorophycées étaient plus efficace que le dermatane sulfate, composé connu pour son activité anti-thrombotique. De manière générale, les fucoïdanes présentent des intérêts médicaux reconnus pour leurs activités antithrombotiques et anticoagulantes **(Maury*et al.*,1995 ; Nardella*et al.*,1996 ; Colliec-Jouault*et al.*,2001).**

1.2.1.Espèce*Caulerparacemosa*

1.2.1.1. Description

Caulerpa racemosa est une Chlorobionte « algue verte » marine de couleur verte, reconnaissable par ses axes rampants (stolons) avec des rhizoïdes et des frondes dressés portant des ramules en forme de vésicule. Sa taille peut atteindre entre 1 et 11 cm. Elle a une reproduction sexuée et végétative **(Klein, 2007).**

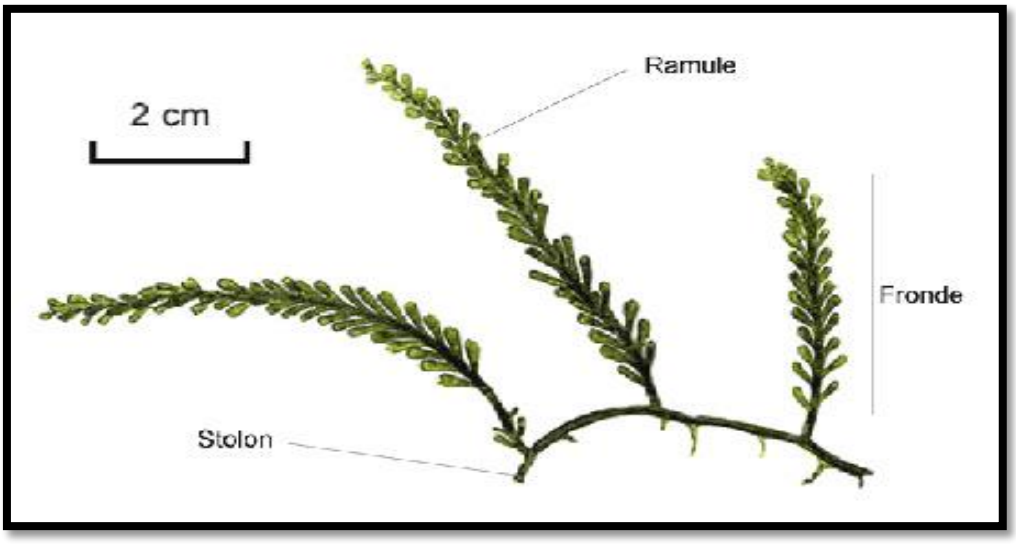

Figure 2 : Thalle de la *Caulerpa racemosa* invasive du golfe du Marseille (30 m). **(Klein& Verlaque 2008).**

1.2.1.2. Classiffication de *Caulerpa* :

L'espèce*Caulerpa racemosa*est classée d'après **Agardh (1873).**

Règne: Plantae

Division: Chlorophyta

Classe: Chlophyceae

Ordre: Bryopsidales

Famille: caulerpaceae

Genre: *Caulerpa*

Espèce*: C. racemosa*

Nom binomial : *Caulerpa racemosa*

1.2.1.3.Habitat

Caulerpa racemosa (1858) est une espèce introduite originaire du Sud Ouest de l'Australie.

Cette algue est présente selon des morphologies et des tailles différentes, surtout en termes de longueur de fronde, en fonction de la région, de la profondeur et de la saison. Elle peut être observée à partir de la zone intertidale jusqu'à des profondeurs de plus de 60 m **(Verlaque *et al.*, 2003).**

1.2.1.4. Impacts écologiques

Caulerpa racemosa représente une menace importante pour la diversité des écosystèmes côtiers benthiques (c'est à dire les herbiers marins, les bancs de maërl et les sédiments grossiers), car elle altère les caractéristiques des habitats, entre en concurrence avec les espèces autochtones et modifie les communautés benthiques autochtones. De nombreuses zones côtières sont aujourd'hui tapissées de cette espèce. Elle est considérée comme l'une des 100 espèces les plus envahissantes en Méditerranée **(Klein et Verlaque, 2008).**

1.2.1.5. Distribution

a. Distribution de *Caulerpa racemosa* en Méditerranée

Caulerpa racemosa est observée pour la première fois en Méditerranée en 1990 devant le port de Tripoli en Libye **(Nizamuddin, 1991).** La présence de cette algue envahissante a été

enregistrée devant les côtes de 14 pays Méditerranéens (Albanie, Algérie, Chypre, Croatie, Espagne, France, Grèce, Italie, Libye, Malte, Monténégro, Tunisie, Monaco et Turquie) mais également dans l'Archipel des Canaries **(Verlaque *et al.*, 2005; Piazzi *et al* .,2005; Klein,2007).** En Algérie, l'espèce a été signalée pour la première fois en 2006 devant le Port d'Alger **(Ould Ahmed& Meinesz, 2007).**

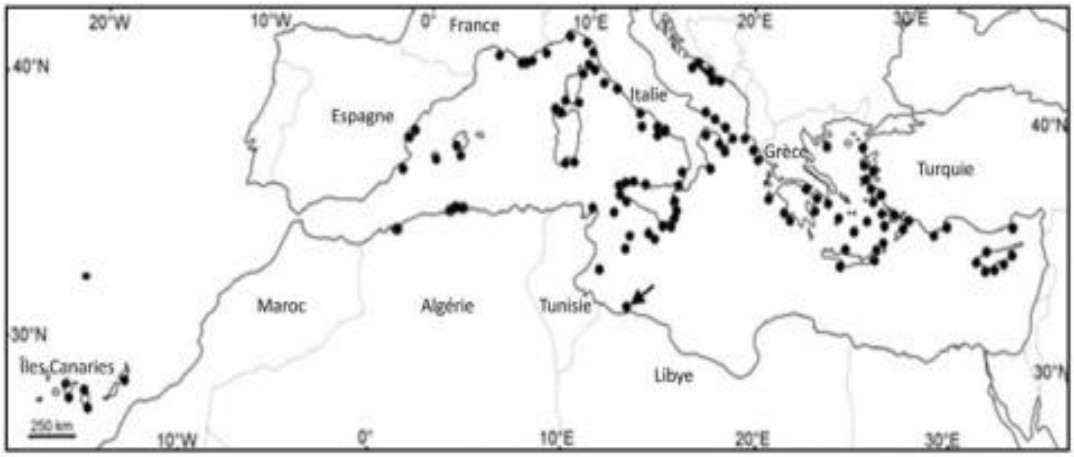

Figure 3 : Première identification de *Caulerparacemosa* en Libye en 1991 (flèche) et localisations déterminées depuis (points) en Méditerranée et aux îles Canaries.

Sources **: (VERLAQUE *et al.* 2004) et (PIAZZI *et al.* 2005).**

b. Distribution de *Caulerpa racemosa* sur le littoral algérien

Caulerpa racemosa a été identifiée pour la première fois à Bou-Ismail en 2006 **(Ould Ahmed et Meneisz , 2007).** D'autres travaux ont permis de mentionner sa présence à Bordj El Kiffan à l'est d'Alger **(Seridi, 2007)** et dans différentes zones du littoral d'Alger **(Lamouti *et al*., 2011).**

Sur la côte ouest algérienne, BOUIADJRA et ses collaborateurs déterminèrent la présence de plusieurs peuplements dans le golfe d'Arzew à Stidia et à proximité du port de Salamandre à l'Ouest de Mostaganem **(Bouidjra *et al.*, 2010).**

D'autres études universitaires réalisées dans les régions du centre ont permis de l'observer à différentes profondeurs (au delà de -20 m), mais n'ont pas fait l'objet de publications **(Seridi&Kabrane, 2010).**

Il faut savoir que la représentation de la distribution actuelle de *Caulerpa racemosa* en Algérie n'est que partielle, l'expansion de l'algue sur l'ensemble du littoral n'étant pas parfaitement connue.

CHAPITRE II

Généralités sur quelques microorganismes

2.1. L'espèce *Escherichia coli*

2.1.1. Caractéristiques

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des*Enterobacteriaceae*. Les *Escherichia coli* sont des bacilles à coloration Gram négative,aéro-anaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates. Ces bactéries sont catalasepositives et ne possèdent pas d'oxydase **(Le Minor*et al.*, 1990).** Elles font parties de la flore commensale de l'Homme et des animaux à sang chaud **(Euzéby, 2011).**

2.1.2. Le pouvoir pathogène

Escherichia coli est aussi à l'origine d'infections communautaires et hospitalières. C'est l'un des germes le plus fréquent des infections néonatales **(Quinet *et al.*, 2010)**, et en particulier les méningites ou les septicémies néonatales. Escherichia coli est une cause fréquente de bactériémie **(Melzer& Petersen, 2007).** Elle provoque 40 à 50% de toutes les infections nosocomiales **(Verhaegen, 2004).**

2.2. L'espèce de*Salmonella sp*

2.2.1.Caractéristiques

Le genre Salmonella, qui appartient à la famille des Enterobacteriaceae.Ce genre est caractérisé par des bacilles à coloration Gram-négative, non sporulants, la plupart du temps doués d'une mobilité propre grâce à des flagelles péritriches (à l'exception de *Salmonella Gallinarum*). La taille des bâtonnets varie entre 2 et 5 µm de longueur sur 0,7 à 1,5 µm de largeur. Ils sont aéro-anaérobies, réduisent les nitrates en nitrites, peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone, fermentent le glucose mais pas le lactose ni le sucrose et produisent du gaz à partir du glucose (sauf *Salmonella typhi*). La réaction au test à l'oxydase est toujours négative **(Le Minor, 1984 ; International Commission on MicrobiologicalSpecifications for Foods, 1996 ; Hanes, 2003).**

2.2.2.Le pouvoir pathogène :

La salmonellose est une maladie infectieuse causée par un groupe de bactéries appelé *Salmonella*. Les personnes qui consomment des aliments contaminés par la Salmonella sont susceptibles de contracter la salmonellose **(D'Aoust, 1989).**

La contamination par les Salmonella, responsables des fièvres typhoïdes et ayant l'homme pour seul réservoir, se fait par ingestion d'eau ou d'aliments ayant subi une contamination fécale d'origine humaine **(Hu &Kopecko, 2003)**

2.3.Le genre *Klebsiella ssp*

2.3.1.Caractéristiques

Selon le Center for Disease Control and Prevention(CDC);le genre *Klebsiella* rassemble des bacilles à Gram négatif, se présentant de manière isolée, ou groupés par deux ou groupés en courtes chaînes et présentant les caractères généraux de la famille des Enterobacteriaceae.

Ce sont des bactéries immobiles, non sporulées, aéro-anaérobies, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive, ODC, ADH, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négatives, bêta-glucuronidase négative, ne produisant pas d'hydrogène sulfuré et fermentant de nombreux sucres dont l'inositol. La majorité des souches sont capsulées. (CDC). et leur taille varie de 0,3 à 1,0 µm de largeur et de 0,6 à 6,0 µm de longueur **(Abbott, 2007).**

2.3.2. Le pouvoir pathogène

En néonatologie, les principales épidémies hospitalières dues à des entérobactéries ont concerné principalement *Klebseillapneumoniae* et *Enterobactercloacae*. **(Quinet *et al.*, 2010).***Klebsiellapneumoniae* est une cause importante de nombreuses infections **(Marra *et al.*, 2006).**Elle se classe parmi les dix premiers agents pathogènes qui causent des infections du sang (BSI) aux États-Unis et au Canada. En Amérique latine, elle est le troisième agent pathogène le plus répandue et isolé dans le tractus respiratoire de l'hôpital des patients atteints de pneumonie et correspond à 12% de tous les pathogènes isolés **(Marra *et al*, 2006).**

2.4 L'espèce de *Staphylocoques aureus*

2.4.1.Caractéristiques

Les staphylocoques sont des coques immobiles, isolés ou groupés en diplocoques ou, le plus souvent, en amas plan de plusieurs éléments (du grec staphylo, grappe de raisin), diamètre moyen 0.8 à 1µm. Après coloration de Gram, ce sont des cocci Gram positif.

La grande majorité des souches de *Staphylococcus aureus* sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule après culture.

Les principaux caractères biochimiques pris en compte sont la production de catalase, la capacité à métaboliser les sucres et la production d'arginine dihydrolase (ADH)**(Jean-Paul,2010)**

2.4.2. Le pouvoir pathogène

Staphylococcus aureus représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aigue et d'intoxications alimentaires**(Dworkin &Falkow, 2006).**

2.5. L'espèce*Enterococcus faecalis*

2.5.1.Caractéristiques

Les entérocoques sont des bactéries à Gram positif, non sporulantes qui se présentent sous forme de coques isolés ou arrangés en paires ou en chaînettes, ce sont des organismes anaérobies aérotolérants, oxydase et catalase négatives**(Paulsen *et al*.,2003).**

Les entérocoques ont une température de croissance optimale de 35 °C bien que la plupart des espèces de ce genre peuvent croître à des températures allant de 10 à 45 °C. Ils peuvent aussi croître en présence de 6,5 % de NaCl, et à pH 9,6**. (Lancefield,1933).**

2.5.2. Le pouvoir pathogène

Les entérocoques sont maintenant clairement identifiés comme une des causes majeures d'infections nosocomiales. Ilsfont partie des pathogènes nosocomiaux les plus communs, et sont responsables d'infections urinaires ou intra-abdominales, d'abcès viscéraux, de pneumonies, de septicémies, d'endocardites et de méningites **(Jett *et al*.,1994, Megran,1992).**

C'est aussi le genre le plus souvent cité lors d'infections de plaies chirurgicales dans les unités de soins intensifs **(Richards *et al*.,2000).**

2.6.*Pseudomonas aeruginosa*

2.6.1. Caractéristiques

*P. aeruginosa*est plus communément appelé bacille pyocyanique, se présente sous forme de bâtonnets droits, de 1 à 3 µm de long et de0,5 à 1 µm de large. C'est un bacille à Gram négatif, non sporulé et rendu mobile, surtout anaérobiose, par une ciliature polaire.

*P. aeruginosa*est une bactérie avec un métabolisme strictement respiratoire, comme accepteur terminal d'électrons, l'oxygène en aérobiose et le nitrate en anaérobiose(respiration des nitrates). Cette espèce produit de façon habituelle deux pigments : la pyocyanine (caractère spécifique de l'espèce) et la pyoverdine (caractère spécifique du groupe génomique fluorescent). On peut noter également la production d'un voile fragile visqueux et peu épais à la surface des milieux liquides avec une odeur aromatique caractéristique (odeur de seringa)**(Percival, 2004).**

2.6.2. Le pouvoir pathogène

Les infections dues à *Pseudomonas aeruginosa*peuvent toucher n'importe quelle partie du corps :

- l'appareil respiratoire en causant des pneumonies ;
- le coeur avec des endocardites ;
- le système nerveux central par des méningites;
- les oreilles par des otites ;
- les yeux au niveau de la cornée par des kératites, des conjonctivites pouvant aller jusqu'a la perte complète de l'oeil ;
- l'appareil digestif avec des gastro-entérites ;
- les infections de l'appareil urinaire sont le plus souvent dues à l'instrumentation enmilieu hospitalier ;
- la peau semble être la plus fréquemment affectée par les infections pseudomonales au travers des dermatites et plus particulièrement les folliculites.

  Enfin, *P aeruginosa*peut aussi être responsable de septicémie généralisée**(Van Delden &Iglewski, 1998).**

Chapitre III

Les antibiotiques et les métabolites secondaires

3.1. Les antibiotiques

3.1.1. Définition

Le terme antibiotique a été créé par Waksman**(Berche *et al.*,1989),** il s'agit de substances chimiques élaborées par des microorganismes. Ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes (bactéries) (Khiati 1998), dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme **(Garnier, 1992)** ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier**(Berche *et al.*,1989),** mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales **(Leclerc *et al.*,1995).** Le cadre des antibiotiques était limité d'abord à des substances d'origine biologique produites par des champignons, puis s'est élargi plus tard et comprend actuellement d'autres produits possédant la même action antibactérienne, mais obtenus par synthèse **(Garnier, 1992)**.Ils ont une toxicité sélective ; ils sont toxiques pour les bactéries mais pas pour l'organisme **(Merad, 2001).**

3.1.2.Les sources principales des antibiotiques

Les sources principales des antibiotiques sont les champignons, mais aussi les bactéries. Il existe également des antibiotiques entièrement synthétiques tels que le chloramphénicol **(Yala *et al,* 2001)**.D'après le même auteur les antibiotiques sont définis aussi par leur : activité antibactérienne (spectre d'activité), leur toxicité sélective (mode d'action) et leur bonne absorption et diffusion dans l'organisme (pharmacocinétique).

3.1.3. Mode d'action des antibiotiques

Le mode d'action des antibiotiques est, soit bactériostatique (empêche le développement microbien) essentiellement tétracyclines, phénicols et les macrolides; soit bactéricide (qui détruit les germes) les bêtalactamines, les aminosides, les polypeptides**(Garnier, 1992 ;Khiati,1998).**Chaque antibiotique possède un spectre d'action, qui est la flore microbienne sur laquelle il exerce son activité bactéricide ou bactériostatique, il est d'autant plus large, ou étendu, que le nombre des espèces microbiennes sensibles est grand. Le spectre d'action varie d'un antibiotique à l'autre **(Garnier ,1992).**

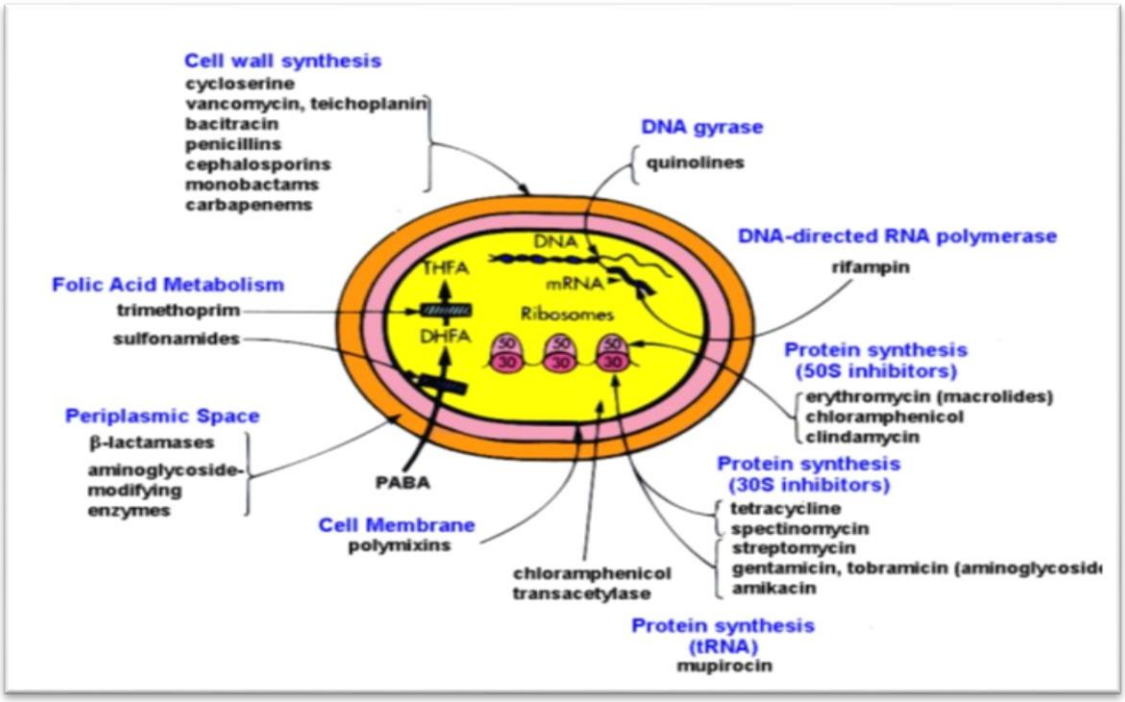

Figure 4 : C**ibles d'action des antibiotiques(Claude&François,1992)**

3.1.4. Les familles des antibiotiques

Selon leur formule chimique, la manière dont-ils agissent sur les microorganismes et leurs effets cliniques, les antibiotiques sont groupés :

Tableau I : Classification des antibiotiques **(Scemama 1992).**

Antibiotique	**Cible**	**Action**	**Mode d'action**
Quinolones	ADN gyrase	Bactéricidie	Synthèse des acides nucléiques
Rifamycines	ADNpolymérase	Bactéricidie	
Novobiocine	Les deux	Bactéricidie	
Aminoglycosides Ex :la gentamicine	30s	Bactéricidie	Synthèse protéique
Tétracyclines	30s	Bactériostase	
Chloramphénicol	50s	Bactériostase	
Macrolides	50s	Les deux	
Lincosamides	50s	Bactériostase	
Acide fusidique	50s	Bactéricidie	
Sulfamides	/	Bactériostase	

Diaminopyrimidines	/	Bactériostase	Métabolisme
5-Nitro-lmidazolés	/	Bactéricidie	
Polyméxines	/	Bactéricidie	Membrane cytoplasmique
Polyènes	/	Bactéricidie	
Lmidazolés	/	Bactéricidie	
Bétalactamines EX :Les pénicillines La céfazoline	/	Bactéricidie	Paroi
Vancomycine	/	Bactéricidie	
Fosfomycine	/	Bactéricidie	
Téicoplanone	/	Bactéricidie	

3.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes **(Lutge *et al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007).**

3.2.1. Les différentes classes de métabolites secondaires

3.2.1.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside…etc. **(Bruneton, 1999 ; Lugasi *et al.*, 2003)**. En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus **(Lugasi *et al.*, 2003).** Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines **(King et Young, 1999 ; Tapiero *et al.*, 2002).** Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits **(Boizot et Charpentier., 2006).**

a. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols **(Seyoum *et al.*, 2006),** ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides **(Ghestem *et al.*, 2001; Bruneton, 1999).** Du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées **(Harborne & Wiliams., 2000).**

b. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est lié à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da **(Paris &Hurabielle., 1981).**Les tanins sont très répandu dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les Fagacée, les rosacée **(Ghesterm *et al.*, 2001)**. Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines **(Khanbabae &Ree., 2001).**

c. Les coumarines

Les coumarines sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2- hydroxy-7-cinnamiques **(Benayache, 2005)**Elles existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau **(Bruneton, 1999).**La coumarine et ses dérivés ont des actions phyto biologiques **(Hostettmann, 1992),** bactériostatiques et anti fongiques **(Rufini&Sampaolo, 1977**). Ils ont «également un effet anti- œdémateux **(Hoult & Paya, 1996).**

d. Les quinones

Ou la benzoquinone (C6H4O2), C'est l'un des deux isomères de la cyclohexadienedione. L'orthobenzoquinone est la 1,2-dione, alors que la parabenzoquinone, est la 1,4-dione ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides **(Kansole., 2009).**

3.2.1.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote **(Schauenber& Paris, 2005).** Ils peuvent être présents dans tous les organes **(Ziegler et Facchini, 2008).** Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3 % du poids sec de la drogue **(Roux & Catier, 2007).**Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins **(Ziegler et Facchini, 2008).**

3.2.1.3. Terpènes

a. Triterpènoïdes et stéroïdes

Les triterpènes sont des composés en C30 issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du scalène **(Krief, 2003).** Les stéroïdes sont dérivés de triterpènestétracycliques et possèdent un squelette cyclopentaperhydro phénanthrène. Beaucoup de stérols se produisent sous forme de glycosides caractérisés par les saponines stéroïdiens **(Hanson, 2003).**

b. Saponines

Il s'agit d'un groupes de stéroïdes. Le mot saponine est dérivé du mot latin sapo. Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon **(Hart *et al,* 2008),** Ils sont des glycosides à poids moléculaire élevé, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules triterpèniques ou stéroïdes. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile **(Wallace, 2004).**

3.2.2. L'activité biologique des métabolites secondaires

Les métabolites secondairesconstituent un groupe de produits naturels qui sont exploré pourdes propriétés très diverses: antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses etc… **(Epifano *&coll*., 2007).**

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité**(Hartmann, 2007).** Ils sont classés en plusieurs composants chimiques dont les plus répandus sont : les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes **(Cuendet, 1999 ; Vermerris., 2006).**

3.2.2.1.Les composés phénoliques

Les composés phénoliques font l'objet de nombreuses recherches en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussés en raison de leurs diverses propriétés et rôles biologiques :

Chez l'homme, les polyphénols présents dans les aliments consommés sont en effet capablesd'abaisser la pression artérielle, d'empêcher l'oxydation des LDL (lipoprotéines defaible densité), d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, d'empêcher l'agrégation plaquettaire et de stabiliser les cellules immunitaires **(Martin & Andrantsitohaina, 2002).** Ils ont été décrits comme étant des antioxydants, des anti-agrégants plaquettaires, des anti-inflammatoires, des anti-allergènes, des anti-thrombotiques et des antitumoraux **(Hanhineva, 2010).**

a. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances phénoliques hydroxylés connus pour être synthétisés par les plantes en réponse à une infection microbienne et ils se sont révélés être des substances antimicrobiennes contre un large éventail de micro-organismes in vitro. Les flavonoïdes est le plus grand groupe de composés phénoliques indiqués pour leur activité antimicrobienne et antivirale. Les flavonoïdes dans le régime alimentaire humain peut réduire le risque de divers cancers, ainsi que la prévention de symptômes de la ménopause. Ses antioxydants d'eau puissants solubles et des piégeurs de radicaux libres, qui prévenir les dommages cellulaires oxydatives et ont une activité anti-cancer forte. Ils montrent anti-allergique, anti-inflammatoire, anti-microbienne et l'activité anti-cancer **(Cushnie & Lamb 2005; De Sousa *et al*, 2007 et Yadav *et al*, 2011)**

b. Les tanins

Les tanins sont impliqués dans la protection contre les infections fongiques et bactériennes. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides **(Kansole., 2009).**

c. Les coumarines

Ils sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, hypotensives ; ils sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées **(Gonzalez &Estevez., 1997),** se sont des toniques veineux aux propriétés anticoagulantes (au niveau du coeur) **(Lucienne, 2010).**

d.Les quinones

Elles assurent souvent des fonctions biologiques essentielles chez les êtres vivants, en particulier le transfert des électrons dans les mitochondries et les chloroplastes **(Macheix *et al*., 2005).**

3.2.2.2. Les alcaloïdes

Les propriétés toxiques ou médicamenteuses des alcaloïdes font de ce groupe de métabolites secondaires un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine etc…).Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne) **(Kansole., 2009).**

3.2.2.3. Les terpénoïdes

On dénombre aujourd'hui 600 classes utilisées de nos jours en aromathérapie dontl'essor s'étend dans le domaine médical et cosmétique (**Lucienne., 2010).**

Partie Pratique

Objectif

L'objectif de ce travail est d'étudier le potentiel antibactérien et antioxydantde différents extraits de l'algue verte *Caulerpa racemosa* du littoral mostaganémois.

1. Matériel végétal

La récolte de l'algue *Caulerpa racemosa* a eu lieu du mois de mars au mois du juin 2016 au niveau la plage de salamandre Mostaganem (Latitude:35°91'N Longitude : 35°91'W) à une profondeur de 0 à 1 mètre.



A: Thalles avant lavage **B:** Thalles après lavage

Figure 5 : Thalles fraiches de *Caulerpa racemosa*

2. Identification botanique

L'espèce *Caulerpa racemosa* a été identifiée par Mr Belbachir N, enseignant- chercheur au niveau du département des sciences de la mer de l'aquaculture (Université de Mostaganem).

3. Récolte et conservation des échantillons

Les échantillons de l'algue ont été récoltés àla main au niveau de la plage de salamandre. Ils ont été lavés avec de l'eau de mer pour les débarrasser de tous les débris adhérents à leurs thalles, puis placés dans des sacs en plastique fermes hermétiquement contenant l'eau de mer. Au laboratoire, ces échantillons sont à nouveau rincés avec de l'eau du robinet et puis avec de l'eau distillée pour ensuite être mis à l'abri de la lumière jusqu'à leur déshydratation complète. Après le séchage; les échantillons ont été broyés et la poudre obtenue a été conservée dans des sacs en papier jusqu'à leur utilisation ultérieure.

4. Préparation des extraits bruts

L'extraction a été réalisée selon la méthode Soxhlet, une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. L'extraction a été effectuée durant 13 heures avec plusieurs solvants (Méthanol, Hexane, Ethanol, Ether de pétrole, Chloroforme et l'Acétone) à raison de1/10. Les extraits obtenus ont étéfiltrés sur papier Whatman n°1 et le filtrat obtenu a étéévaporé à sec à 40 °C sous pression réduite avec un rotavapeur de type BUCHI R-200. Les extraits bruts obtenusont été stockés dans des flacons hermétiques bruns à 4°C.



figure 6 : Montage deSoxhlet



figure7 : Evaporateur rotatif type BUCHI R-200.

5. Calcul du rendement des extraits

Le rendement en pourcentage de l'algue en extrait sec a été calculé par la formule :

$$R\ (\%) = (M/M_0)\ X\ 100$$

R(%) : rendement en pourcentage.

M : masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M_0 : masse en gramme du matériel végétal de départ.

6. Etude du pouvoir antibactérien

6.1. Préparation des extraits

Différentes concentrations d'extraits bruts ont été préparées dans du DMSO à raison de 25 mg/ml, 50 mg/ml ,100 mg/ml et 200 mg/ml.

6.2. Préparation des disques

Des disques de 6 mm de diamètre ont été découpéssur du papier de Whatman n°2, puis ont été mis dans un tube à essai pour subir une stérilisation.

6.3. Souches testées

Six souches bactériennes ont été choisies pour leur haute pathogénicité et leur multi résistance aux antibiotiques (**Tableau II).**

Tableau II: Souches utilisés dans le test antimicrobien

Microorganismes	**Gram**	**Code**
Staphylococcus aureus	Positif	ATCC 25923
Enterococcus faecalis		
Pseudomonas aeruginosa	Negatif	ATCC 27853
Escherichia coli		ATCC 25922
Klebsiellasp		
Salmonella sp		

Staphylococcus aureus (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et *Escherichia coli (*ATCC 25922)ont été fournis par l'hopital El katar (Alger).*Klebsiellasp et Salmonella sp*nous ont été fournis par le laboratoiredu GAO (Mostaganem).enfin, *Enterococcusfaecalis* a été obtenu du servicede microbiologie de l'hôpitalde Aintedles.

6.3.1. Confirmation des souches

6.3.1.1. La coloration de Gram

Il s'agit d'une coloration différentielle qui divise les bactéries en deux groupes : les Gram positif et les Gram négatif. Pour se faire, un frottis bactérien a été réalisé pour ensuite subir plusieurs étapes de coloration : une coloration au violet de gentiane, ensuite une fixation au Lugol (Iode et Potassium) qui crée une laque avec le violet de gentiane dans le cytoplasme bactérien. Par la suite, un bain d'alcool 95° pour éliminer le colorant inutile et décolorer les Gram- pour finir par une coloration à la safranine. Les Gram- seront colorés en rose et les Gram+ resteront violets (Prescott, 2009).

6.3.1.2. Test de la catalase

La catalase est une enzyme respiratoire qui catalyse la libération de molécules d'eau et d'oxygène à partir du peroxyde d'hydrogène, un produit métabolique toxique pour les bactéries. Pour se faire, une goutte de peroxyde d'hydrogène 30% (H_2O_2) est déposée sur la colonie placée sur une lame. On observe une production de bulles (libération de gaz) lorsque la réaction est dite positive **(Lairini et *al*.,2015).**

6.4. Conservation des souches

La conservation a été réalisée par ensemencement des souches isolées sur gélose nutritive inclinée. Les cultures pures ont été conservées à 4°C.

6.5. Milieux de culture utilisés

Les milieux de culture utilisés sont :

Bouillon nutritif

Gélose Mueller Hinton.

6.6. Préparation de l'inoculum

A partir d'une préculture bactérienne d'environ 18 h sur bouillon nutritif ; des dilutions ont été réaliséesen vue d'obtenir une suspension bactérienne dont la densité optique mesure à 625 nm est comprise entre 0,08 à0,1 ce qui correspond à une concentration de 10^8 UFC/ ml. L'ensemencement doit se faire dans les15min qui suit la préparation de l'inoculum.

6.7. Ensemencement

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boites Pétri. Un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées.

L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence une boite de Pétri avec la même souche.

6.8. Application des disques

Les disques imprégnés d'extraits (10 µl) sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

Des disques Whatman imprégnés de DMSO ont été utilisés comme témoin négatif.

6.9. Antibiogramme

Le but de réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques. Dans cette étude, le but de leur utilisation et de comparer l'effet antibactérien des extraits de l'algue étudiée à celui des antibiotiques testés.

Des disques de 6 mm de diamètre imprégnés des différents antibiotiques (Institut Pasteur, Alger) ont été utilisés (tableau III).

Tableau III : Liste des antibiotiques testés sur les bactéries

Antibiotiques	Code	Charge
Penicilline G	P10	30µg
Gentamicine	CN 10	10µg
Cephazoline	CZ 30	10µg
Tetracycline	TE 30	30µg

6.10. Incubationet lecture

Les boites ont été incubées pendant 24 h à 37°C.Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés àl'aide d'une règle graduée. Selon le diamètre d'inhibition, on classe la bactérie dans l'une des catégories : Sensible ou Résistante.

7. Testsphytochimiques

L'un des buts essentiels d'un test phytochimique consiste dans la détection des différentes familles de métabolites secondaires existant dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés ainsi que des examens en lumière ultraviolette **(Hagerman *et al.*, 2000).**

Dans notre étude expérimentale nous avons utilisé les techniques standards décrites par **(Terease & Evans, 1989 ;Harborne, 1998 ; Bruneton ,1999).**

Les résultats ont été évalué comme suit : +++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif**.**

7.1. Les composés polyphénoliques

7.1.1. Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à tester et y ajouter 1ml d'acide chlorhydrique (HCl) et quelquestournures de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge, orange ou jaune révèle la présence des flavonoïdes.

7.1.2. Les tanins

Un volume d'extrait auquel sont ajoutées quelques gouttes de solution de gélatine 1%.L'apparition de précipité blanc indique la présence des tanins.

7.1.3. Les coumarines

5ml d'extrait sont introduite dans un tube auxquelles est ajouté 0,5ml de NH4OH à 10%. Le mélange est observé sous UV à 366 nm .Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

Un deuxième test a été réalisé en ajoutant 3ml de NaOH à 10% à 2ml d'extrait. La présence des coumarines est indiquée par une coloration jaune.

7.1.4. Alcaloïdes

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer et Wagner. 5ml de extraites évaporé à sec, 2ml d'HCL (2%) sont ensuite ajouté. Le mélange est chauffé dans un bain marie puis filtré. Le filtrat est divisé dans deux deux tubes à essai où dans l'un sont ajoutés quelques gouttes de réactifs de Mayer, et dans le deuxième quelques gouttes de réactif Wagner (Annexe III).

7.1.5. Les saponines (Test de mousse)

Dans un tube à essai, sont introduit 5ml d'extrait à tester et 5ml d'eau distillée chaude. Le tube et agité pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15min. Une hauteur de mousse persistante indique la présence des saponines.

7.1.6. Les quinones

A 1 ml d'extrait à analyser, est ajouté 0,5 ml d'une solution aqueuse de NaOH à 10 %. La présence des quinones est indiquée par une coloration jaune, rouge ou violette.

7.1.7. Les Stérols et triterpènes

Il consiste à évaporer à sec l'extrait à analyser concentré correspondant à 1ml. Ensuite, on dissout le résidu obtenu dans 1ml d'anhydre acétique puis on ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4).

7.1.8. Les Anthraquinones

5ml d'extrait à analyser, ajouter 2 ml d'NH4OH à 10 %. La présence des Anthraquinones est indiquée par une coloration violette.

7.1.9. Test des sucres

A 1ml d'extrait analyser, est ajouté 1ml mélange de la solution de Fehling A et B (Annexe III).avec chauffage. L'apparition d'précipité rouge brique indique la présence des sucres.

8. Le pouvoir anti radicalaire par la méthode au DPPH

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparait rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entrainant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :

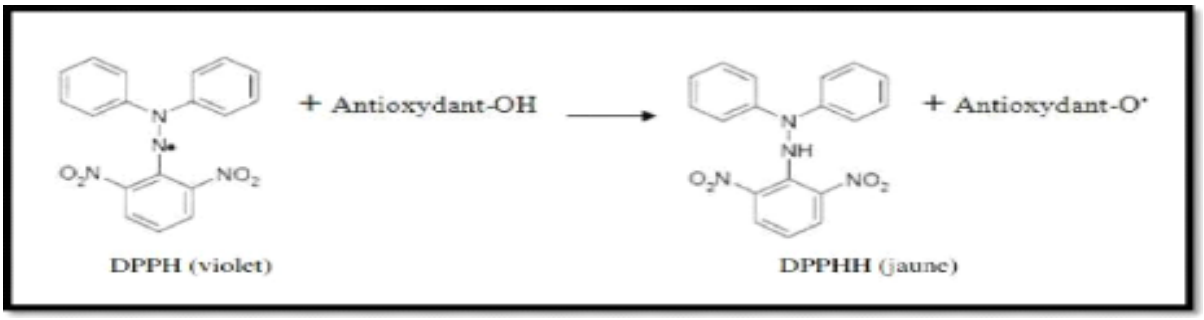

Figure 8 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaireDPPH et un antioxydant

8.1.Mode opératoire

La solution du DPPH est fraichement préparée par solubilisation de 0.005 g de DPPH dans 200ml de méthanol absolu. 25µl de l'extrait à différentes concentrations sont ajoutés à 975 µl deDPPH. Des dilutions de l'antioxydant de référence l'acide ascorbique sont également préparées dans les mêmes conditions pour servir de contrôle positif.

En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 25 µl du méthanol avec 975µl d'une solution méthanolique de DPPH. Le mélange

est laissé à l'obscurité pendant 30 min jusqu'à décoloration. Le dosage est réalisé par spectrophotométrie à une longueur d'ondede 515 nm.

Le pourcentage de l'activité anti radicalaire est estimé selon l'équation ci-dessous :

% Activité anti radicalaire = (Abs contrôle - Abs échantillon / Abs contrôle) x 100

8.2. Evaluation du potentiel anti-radicalaire par le calcul de l'IC50

L'IC50 (Concentration inhibitrice 50), appelée également EC50 (*Efficient concentration 50*), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. LesIC50 sont calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés **(Torres et *al.*, 2006).**

Pour toute l'expérimentation, chaque test est réalisé en triplicata et les résultats ont étécalculés par la moyenne des trois essais.

Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

La préparation des extraits bruts à partir de thalle complète de *Caulerparacemosa* a été effectuée par des différents solvants polaires et apolaires. Cette extraction a permis d'obtenir six extraits bruts : L'extrait méthanolique (MeOH), l'extrait d'Hexane, l'extrait d'éthanol (EtOH), l'extrait d'éther de pétrole(ETHP), l'extrait chloroformique (Chl) et l'extrait d'acétone.

La couleur et l'aspect ainsi que le rendement des différents extractions obtenus sont illustrés dans (**Tableau IV)**

Exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de l'algue fraiche.

Tableau IV : Aspect, couleur et rendement de différents extraits de *Caulerparacemosa*.

Extrait	**Aspect**	**Couleur**	**Rendement%**
Extrait MeOH	Pâteux	Vert foncé	**10.175**
Extrait Hexane	Visqueux	Vert foncé	**3.9**
Extrait EoH	Pâteux	Vert foncé	**7.3**
Extrait ETHP	Visqueux	Vert foncé	**2.22**
Extrait Chlo	Pâteux	Vert foncé	**4.25**
Extrait Acétone	Granulé	Or métallisé	**13.02**

D'après les résultats obtenus, extrait d'acétone représente le meilleur rendement (13,02%), suivi par extrait de MeOH(10,17%). Le rendement le plus faible est celui obtenu par extraction à l'ether de pétrole (2,22%).

2. Etude du pouvoir antimicrobienne

2.1. Confirmation des souches

La coloration de Gram et le test de la catalase dont les résultats sont représentés dans **la figure 10** ont permis la confirmation des souches utilisées.

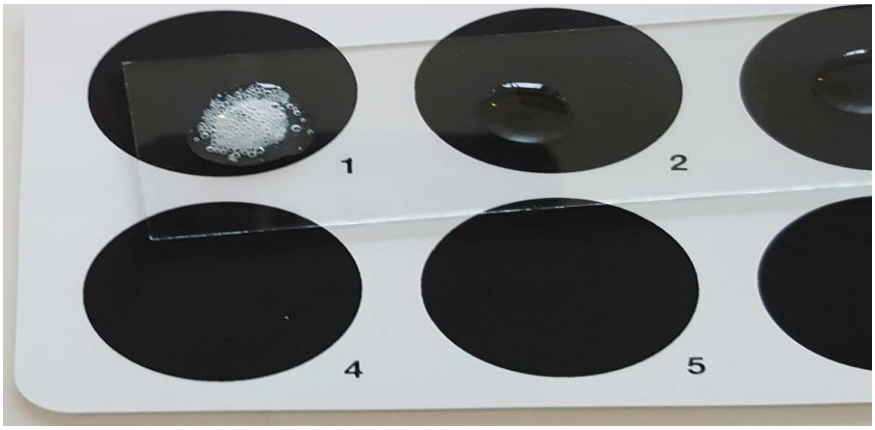

Figure 10 : Test catalase

2.2. Pouvoir antibactérien des extraits

Le pouvoir antibactérien est plus ou moins important selon la nature de la souche et la concentration des extraits. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition des différents extraits ont été mesurées. Lesrésultats sont représentés dans les figures suivantes :

2.2.1. Effet des extraits sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

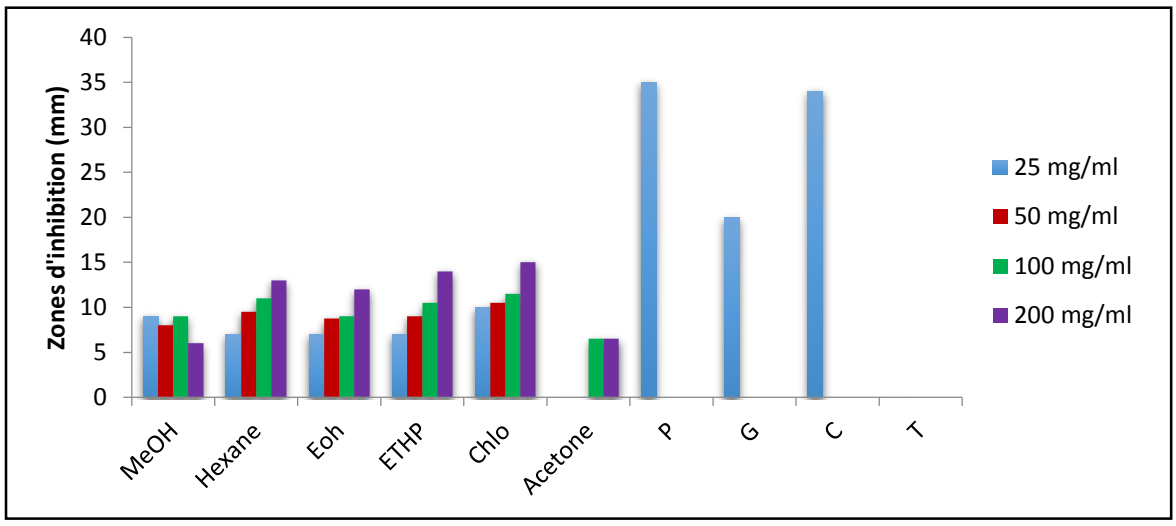

Figure 11 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D'après les résultats obtenus, les différents extraits avec des différents concentrations (25mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml, 200mg) montrent un effet inhibiteur sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. L'extrait de Chloroforme à concentration (200mg /ml) présente une

activité inhibitrice maximale avec une zone d'inhibition de 15mm, suivi par les extraits d'ETHP, Hexane et EtOH) à concentration (200mg/ml) avec des zones d'inhibition de 12, 13,14 mm respectivement.

Mise à part une résistance à la tétracycline, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 montre une sensibilité très élevé vis-à-vis des autres antibiotiques testés.

2.2.2. Effet des extraits sur *Escherichia coli* ATCC 25922

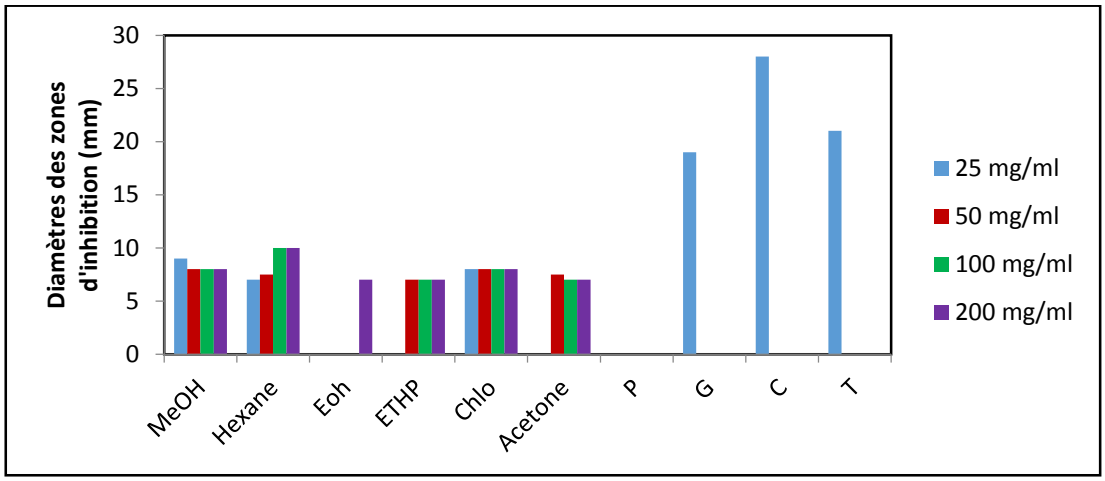

Figure 12 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Escherichia coli* ATCC 25922

D'après la figure 12, les différents extraits montrent un effet inhibiteur sur *Escherichia coli* ATCC 25922et ce aux différents concentrations utilisées. L'extrait d'Hexane auxconcentrations 100 et 200mg /ml présente une activité inhibitrice maximale avec une zone d'inhibition de 10mm. Une faible activité inhibitrice a été enregistré pour l'extrait EtOH avec une zone d'inhibition de 7mm uniquement à la concentration 200 mg/ml.

Escherichia coli ATCC 25922 montre une sensibilité très élevé vis-à-vis les antibiotiques testés ; cependant, elle est résistante à la pénicilline.

2.2.3.Effet des extraits sur *Klebsiellasp*:

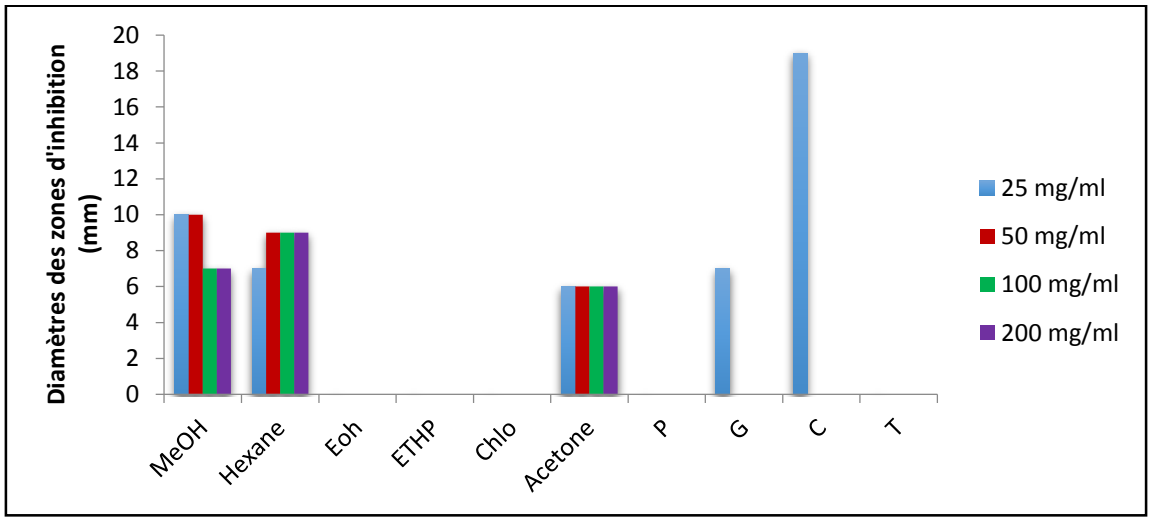

Figure 13 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Klebsiellasp.*

D'après les résultats obtenus figure 13, *Klebsiella sp* montrent une résistance vis-à-vis de trois extraits : EtOH,ETHP et Chlo). La meilleure inhibition est enregistrée pour l'extrait méthanolique aux concentrations25et 50mg /ml avec une zone d'inhibition de 10mm.

Klebsiella sp montre une sensibilité très élevée vis-à-vis des antibiotiques testés mais résiste à la Pénicilline.

2.2.4.Effet des extraits sur *Salmonella sp*

D'après la figure ci-dessous, *Salmonella sp* démontre une sensibilité à tous les extraits utilisés avec activité inhibitrice maximale pour l'extrait méthanolique où a été obtenue une zone d'inhibition de 10 mm,suvi par les extraits ETHPet l'acétone à une zone d'inhibition de 9mm, une faible activité inhibitrice a été enregistré dans l'extrait Eoh avec une zone d'inhibition de 7mm. Ces extraits sont plus efficaces sur cette souche de *Salmonella sp*comparée aux antibiotiques P, C et T.

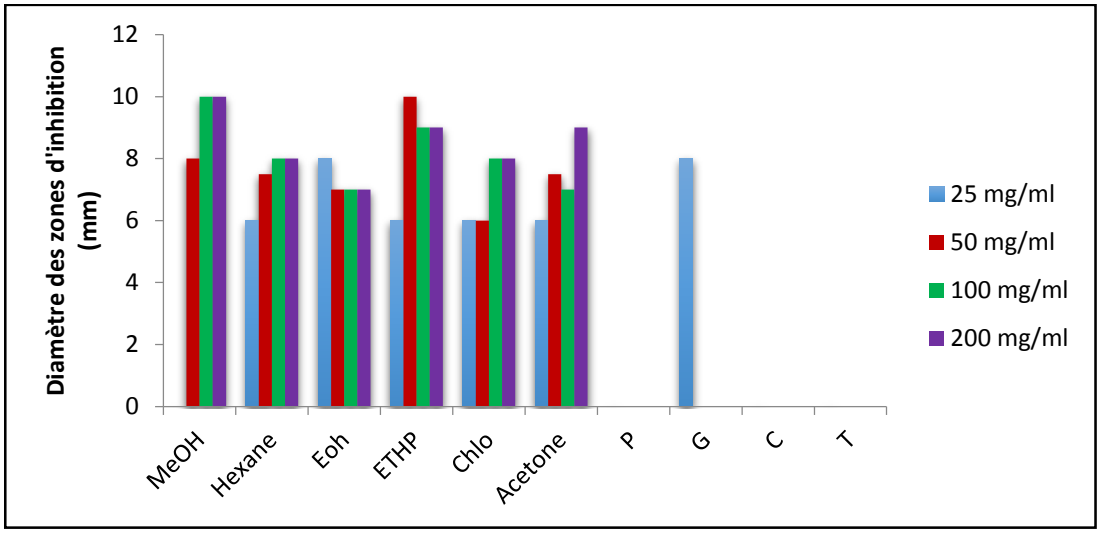

Figure 14 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Salmonella sp*

2.2.5.Effet des extraits sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

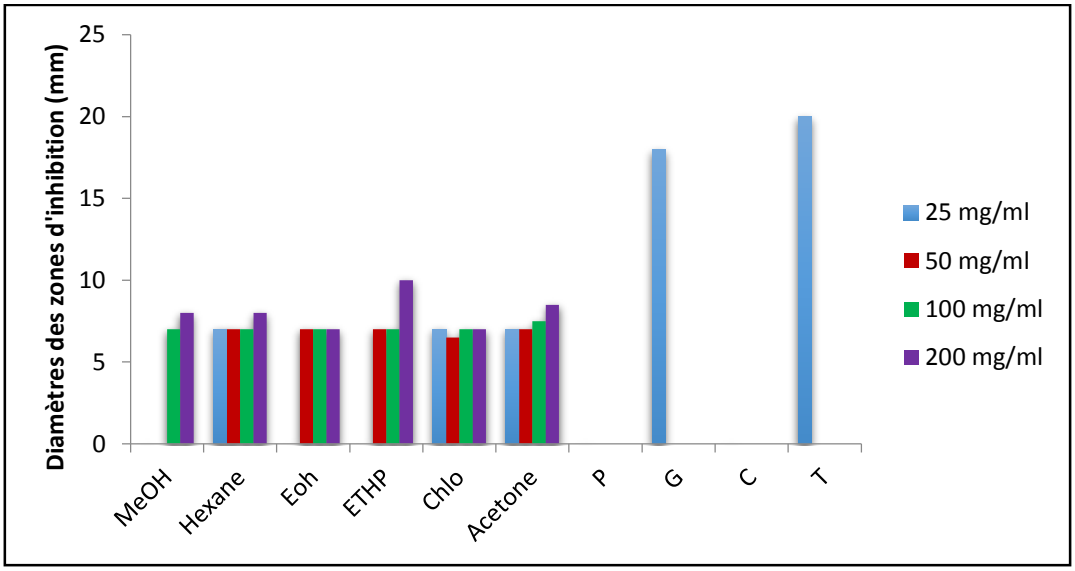

Figure 15 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*

D'après la figure 15 qui montre une homogénéité des résultats, les différents extraits avec des différents concentrations (25mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml, 200mg) présentent un effet inhibiteur sur*Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853. L*'extrait d'ETPH à concentration 200mg /ml présente une activité inhibitrice maximale avec une zone d'inhibition de 10mm. *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* montre une sensibilité très élevé vis-à-vis des antibiotiques testés et résiste la P et C.

2.2.6. Effet des extraits sur*Enterococcusfaecalis*

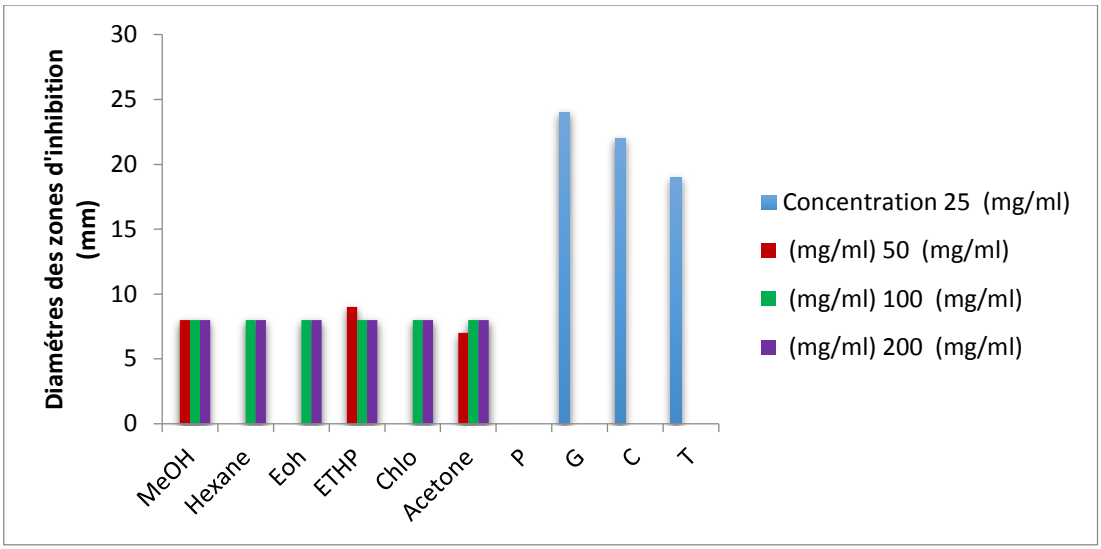

Figure 16 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Enterococcusfaecalis*

Les résultats montrent que les différents extraits ont le même effet inhibiteur auxdifférentes concentrations, exception faite pour l'ETHP et l'acétone pour la même concentration (50mg/ml), le premier inhibe plus que les autres extraits (9mm) et le second a un effet moindre (7mm**).**

Enfin, le DMSO a été testé comme témoin négatif, et les résultats montrent que ce dernier est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes.

3. Tests phytochimiques

Les tests photochimiques réalisés sur les différents extraits ont permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires présent dans notre algue étudiée par des réactions qualitatives de caractérisation (précipitation, coloration par des réactifs spécifiques, ou par un examen sous la lumière (UV). Les résultats sont résumés dans le**Tableau V**

Tableau V : Résultats des tests photochimiques sur les extraits de *Caulerparacemosa* selon des différents solvants.

Métabolites secondaires	Extrait MeOH	Extrait Hexane	Extrait EoH	Extrait ETHP	Extrait Chlo	Extrait Acetone
Polyphénol	+	+	+++	++	+++	+
Flavonoïdes	+	-	++	-	+	+/-
Tanins	-	+	-	-	++	+++
Quinones	-	-	-	-	-	-
Saponosides	-	-	-	-	-	-
Terpènes	-	+	-	-	+	+
Stéroïdes	-	-	-	-	+	-
Alcaloïdes sels	+	+	-	+	+	-
Alcaloïdes bases	+	-	-	-	+	-
Coumarines	-	+	-	-	+	-
Anthraquinones	-	-	-	-	-	-
Sucres	-	-	-	-	+	-

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennent positif ; + : Faiblement positif ; - : négatif

Ces tests montrent la richesse des différents extraits de cette algue en polyphénols, avec absence total des quinones et d'anthraquinones. L'extrait de Chloroforme montre la présence des polyphénols tels que les flavonoïdes, les tanins et des coumarines, ainsi que la présence d'autres métabolites tels que les stéroïdes et les alcaloïdes.

4. Activité antioxydant et Evaluation de l'IC50

La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits préparés. Les résultats sont représentés dans la figure 17.

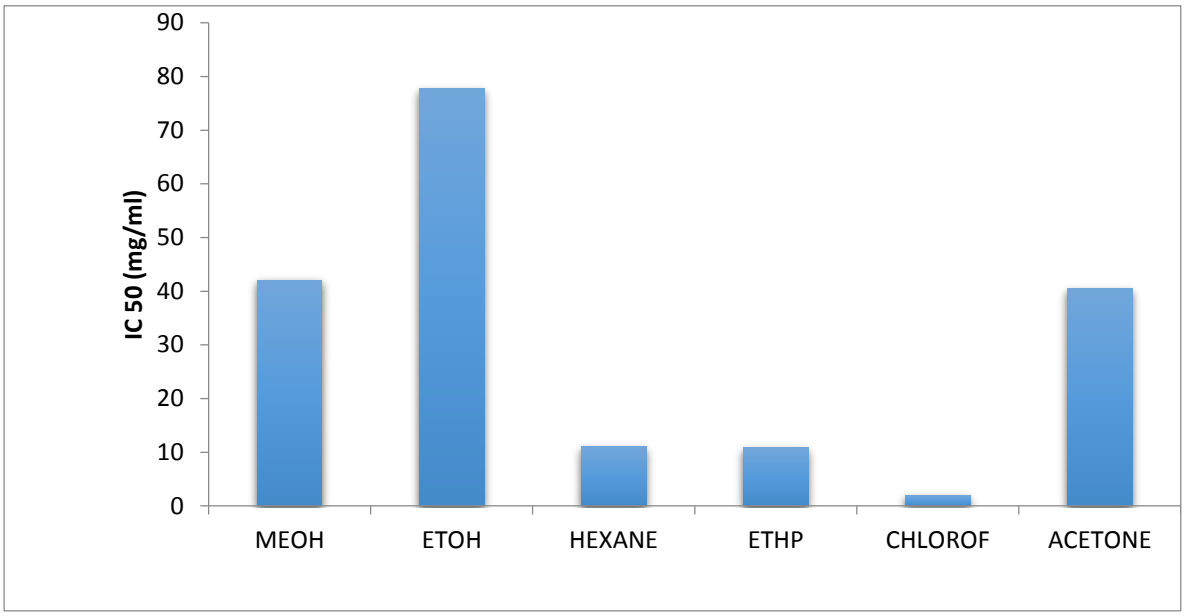

Figure 17: Valeurs des IC50 trouvées pour les différents extraits de *Caulerpa racemosa*.

D'après la figure ci-dessus, l'extrait chloroforme montre la meilleure capacité de piégeage du radical libre DPPH (IC 50 : 1,98 mg/ml), suivi par l'extrait hexane et éther de pétrole (respectivement 11,07 et10, 83 mg/ml ; P>0,05). L'extrait ayant démontré la plus faible capacité de piégeage duradical libre DPPH est l'extrait éthanol (IC 50 : 77,72 mg/ml).

DISCUSSION

L'aspect des différents extraits de *Caulerpa racemosa* récoltée au niveau du la plage de Salamandre (la crique, Mostaganem)(pâteux, visqueuxet granuleux) ainsi que leur couleur (verte, brune) sont identiques aux résultats de certains travaux réalisés sur la même espèce **(Azhagu et *al*.,2015).**

L'effet inhibiteur de l'extrait de chloroforme a été enregistré sur toutes les bactéries testées sauf sur*Klebsiellasp*qui y résiste. L'effet d'inhibition est très important sur *Staphylococcus aureus* avec une concentration minimale de 25mg/ml et maximale de 200mg/ml montrant une activité inhibitrice d'une zone de 10à 15mmrespectivement, ce qui est probablement dû à la présence des substances naturelles à effet antibactérien. Cette fortes activités inhibitrice est peut être liées aux composés phénoliques qui ont une forte activité bactéricide **(Nagayama*et al*., 2002)**.Ces résultats sont en accord étroit avec ceux obtenus par **(Patra*et al*.,2008).** Il a été révélé que les extraits obtenus parle chloroforme et l'acétate d'éthyle étaient actifs contre la plupart des agents pathogènes alors que les extraits de méthanol et d'éthanol sétai en actifs seulement contre *Shigellaflexneri* **(Patra*et al*., 2009)**.

L'extrait méthanolique a un effet inhibiteur sur toutes les bactéries testées avec une concentration minimale de 25mg/ml et maximale de 200mg/ml avec une activité inhibitrice reflétée par une zone claire de 7 et 10mm respectivementsur *Salmonella sp* qui résiste à l'antibiotique pénicilline et cefazoline.Contrairement à nos résultats, certains auteurs **(Manila*et al*., 2009 ; Rangaiah*et al*., 2010)**n'ont trouvé aucun effet antibactérien de l'extrait méthanoliquesur *Salmonella sp*..

L'effet d'inhibition est très important sur *Staphylococcus aureus* avec une concentration minimale de 25mg/ml et maximale de 200mg/ml. (Sara*et al.,* 2013)ont fait des observations similaires en ce qui concerne l'efficacité des extraits d'éther de pétrole, hexane et l'éthanol vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, mais avec des zones d'inhibitions supérieures.

Une faible efficacité inhibitrice a été enregistréepour l'extrait d'acétone avec une zone d'inhibition de 6 à 8.5mm et ce vis-à-vis toutes les bactéries testées. Aucune étude n'a été réalisée sur l'effet inhibiteur de l'extrait d'acétone de *Caulerparacemosa* sur les agents pathogènes.

Tous les extraits d'algue*Caulerparacemosa*ont eu donc un effetinhibiteur tant sur les bactéries gram positif que Gram négatifs mais avec des zones trop faibles par rapport aux diamètres d'inhibition généralement trouvées avec les antibiotiques. *E. feacalis* et *Klebsiella sp* étaientles bactéries les plus résistantes, alors que *Staphylococcus aureus* montreune grande

sensibilité vis-à-vis de tous les extraits, la susceptibilité de bactéries Gram positives aux extraits d'algues, était plus que celles des bactéries Gram négatives. Beaucoup d'auteurs ont fait des observations similaires **(Demirel *et al.*, 2009 et Ibtissam*et al.*, 2009).**La sensibilité bactéries Grampositives à l'extrait d'algues est due à la différence dans la structure de la paroi cellulaire et sa composition **(Taskin*et al.*, 2007).** Dans les bactéries Gramnégatif, la membrane externe agit comme une barrière à l'environnement de nombreuses substances, y compris les antibiotiques **(Tortora *et al.*, 2001).** La présence d'une couche épaisse dans la paroi cellulaire empêche également l'entrée des inhibiteurs **(Kandhasamy & Arunachalam, 2008).**

Selon nos résultats, l'activité antibactérienne le plus élevée a été enregistré pour les extraits de chloroforme sur *Staphylococcus aureus* qui montre la grande sensibilité vis-à-vis tous les extraits.

Les macro-algues marines peuvent inhiber la croissance de certaines bactéries **(Abd El Mageid*et al.*, 2009)**. Beaucoup d'auteurs **(Kumar*et al.*, 2008;. Rajasulochana*et al.*, 2009)**ont rapporté les activités deplusieurs algues tels que *Padinasp.,Sargassumwightii et Caulerparacemosa c*ontre les Gram positif et les Gram négatif.

La capacité des algues marines à produire des métabolites secondaires d'intérêt potentiel a été largement documenté **(Cabrita*et al.*, 2010).** La richesse de l'extrait de chloroforme en polyphénol dont les flavonoïdes, tanins et coumarines ainsi qu'en alcaloïdes etstéroïdes,confirme leur activité antibactérienne vis-à-vis des agents pathogènes testés. Ceci peut également expliqué l'effet antibactérien des extrait d'éther de pétrole qui montre une richesse de quelque métabolite secondaire, telsqueles polyphénols, les alcaloïdes sels.

Les résultats obtenus rejoignent ceux publiés par (**Azhagu*et al.*, 2015)** sur l'étude qualitatif del'extrait de *Caulerparacemosa*ce qui a prouvé l'existenced'un grand nombre des métabolites secondaires chez cette espèce.

Les flavonoïdes sont surtout abondants chez les plantes supérieures, particulièrement dans certaines familles : Polygonacées, Rutacées, Légumineuses, Ombellifères et Composées **(Paris &Hurabielle, 1980).** Pendant la recherche qualitatif des métabolites secondaire, nos extrait sont enregistréla présence des flavonoïdes dans l'extrait d'éthanol, chloroforme et méthanol. Les travaux de (**Azhagu*et al.*,2015)** montre la présence de flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de *C. racemosa*a de faibles quantités. Cette variation dans les résultatsest due à la différence des méthodes utilisé pour déterminé la présence des

flavonoïdes entre qualitatifet quantitatif (dosage). De plus, Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée(température, l'osbcurité,…), affectent tous le contenu total en phénols et flavonoïdes, et par conséquent affecte les activités biologiques médiées par ces métabolites **(Lee *et al.*, 2003).**

D'après les résultats de la présente étude, il est clair que, les solvants organiques ont toujours une meilleure efficacité dans l'extraction des composés antibactériens par rapport à l'eau comme agent d'extraction ; etle chloroforme s'avère comme étant le solvant le mieux adapté pour l'extraction du constituant antibactérien des algues. Ces résultats sont en accord avec celles rapportées précédemment pour extraire des substances antibactériennes telles que des phénols, des polyphénols provenant d'espèces de Chlorophyceae (*Caulerpa racemosa*).

Les résultats obtenus par piégeage du radical libre DPPH dans le présent travail révèlent que les extraits bruts méthanolique, d'ether de pétrole, d'hexane, d'éthanol et d'acétone sont plus faibles en comparaison avec les résultats obtenu par chloroforme, cela est probablement lié à la complexité des extraits bruts en substances polyphénoliques y compris les tanins et les flavonoïdes et la synergie entre eux pour une meilleure activité antioxydant **(Vermerris et Nicholson, 2006).**

Nos résultats indiquent que l'extrait brut de l'chloroforme présente une activité remarquable vis-à-vis du piégeage du DPPH avec un IC50 de 1,98 mg/ml. A ce propos, L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydant d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeurd'IC50 est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est élevé **(Pokorny et *al,* 2001).**

Enfin, le mode et le mécanisme d'action des extraits d'algue et leurs composés ne sont pas totalement compris et les recherches se poursuivent. Mais quelques auteurs ont donné plusieurs suppositions selon leurs observations: une action sur le métabolisme énergétique **(Gill *et al*.,2004)**,interruption de la force proton motrice de la membrane cellulaire, dénaturation non spécifique du cytoplasme de la paroi et de la membrane cellulaire**(Manou*et al.*,1999),**dénaturation des protéines par les composés phénoliques**(Madigan*et al.*,1997).** D'autres auteurs mentionnent une relation entre la structure et l'activité antibactérienne des molécules qui constituent les extraits d'algue et huiles essentielles par la présence de certains groupes fonctionnels: les composés aldéhydiques et phénoliques sont très actifs dans certains essais bien déterminés **(Friedman *et al.*,2002),**les structures phénoliques sont les plus actives

sur d'autres microorganismes, par la présence du groupe hydroxyle et sa position, les aldéhydes ont aussi une activité antimicrobienne puissante, la présence de l'oxygène dans les cétones augmente les propriétés antimicrobienne des terpènes **(Dorman*et al*.;2000).**Cela correspond à nos résultats obtenus par les tests phytochimiques (qualitatifs),où l'extrait de chloroforme et l'extrait de l'ether de pétrole ont montré la richesse en polyphénols dontles flavonoïdeset les coumarines,enalcaloïdes,d'autre par l'extrait de chloroforme montre la meilleure capacité de piégeage du radical libre DPPH.

Conclusion

Conclusion

La recherche de nouvelles substances antimicrobiennes purement naturelles est la préoccupation capitale de la plupart des chercheurs, actuellement.

Qualitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence importante des polyphénols et surtout des flavonoïdes dans l'extrait de chloroforme et l'éther de pétrole ainsi la présence des alcaloïdes, et des coumarines.

Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que les extraits apolaires, en particulier l'extrait de chloroforme, possèdent une bonne activité radicalaire, mais également antibactérienne.

Par ailleurs, *Caulerpa racemosa* contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires. Au cours de cette étude nous nous sommes intéressés à l'activité antibactérienne de cette algue vis-à-vis six bactéries pathogènes. Les résultats microbiologiques ont montré que l'extrait de chloroforme de *Caulerpa racemosa* a une action sur les espèces bactériennes testées, avec *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) qui montre une sensibilité envers tous les extraits.

Toutes fois, un travail complémentaire s'impose en vue d'identifier les différentes molécules en particulier les composés phénoliques présents dans les extraits bruts secs et les flavonoïdes isolées des fractions et les purifier en utilisant diverses techniques chromatographiques notamment la chromatographie liquide à haute performance(HPLC) et des méthodes spectrales pour l'élucidation structurale.

Enfin, l'évaluation des différentes molécules isolées in vivo sur différents modèles biologiquesest recommandéeen vue de les utiliser à des fins thérapeutiques et de conservation des produits destinés à la consommation.

Références Bibliographiques

A

Abbott, S. L. (2007). Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 698-711). Washington, USA: ASM Press.

Ainane, T.(2011). Valorisation de la biomasse algale du Marne : Potentialit pharmacologiques et applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata. These de doctorat en chimie*, Universite Hassan II - Casablanca, Marne.

Abderrazak M. et Joël R. (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177p.

Azhagu Raj. Rl, Mala. Kl and A Prakasam.(2015). India.Phytochemical analysis of marine macroalga *Caulerpa racemosa* CJ.Agardh chlorophyta-caulerpales from tirunel velidistrict,tamilnadu INDIA. Department of Zoology, Pachaiyappa's College for Men, Kanchipuram,Tamilnadu.Vol. 4(8), 2015 pp. 3055-3067.

B

BENAYACHE F.(2005). Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d"espèces du Genre Genista (Fabaceae) : G. saharae, G. ferox. Thése de Doctorat en chimie organiques. Université MentouriConstantine. Algérie. 199 p

Boisson-Vidal, C., Zemani, F., Calliguiri, G., Galy-Fauroux, I., Colliec-Jouault, S., Helley, D., Fisher, A.M.(2007). Neoangiogenesis induced by progenitor endothelial cells: effect of fucoïdan from marine algae. Cardiovascular and Hematological Agents in Medicinal Chemistry. 5, 67-77.

Baba, M., Schols, D., Pauwels, R., Nakashima, H., de Clercq, E. (1990). Sulfated polysaccharides as potent inhibitors of HIV-induced syncytium formation: a new strategy towards AIDS chemotherapy. Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes. 3, 493-499.

Bachir Bouiadjra B., Taleb M.Z., Benkada M.Y., Marouf A., Youcef M. et RiadiI H.(2010). First record of the invasive alga *Caulerpa racemosa*(*Caulerpales, Chlorophyta*) in the Gulf of Arzew (western Algeria). *Aquatic Invasions*, vol. 5, suppl. 1, p. 97-101.

Boizot N., and Charpentier .J.P. (2006).Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. pp 79-82. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.

Berche P, Gaillard J-L, Simonet M. (1989). Bactériologie: bactéries des infections humaines.Médecine-Sciences Flammarion.

C

Colliec-Jouault, S., Chevolot, L., Helley, D., Ratiskom, J., Bros, A., Sinquin, C., Roger, O., Fisher A.M. (2001). Characterization, chemical modifications and in vitro anticoagulant properties of an exopolysaccharides produced by *Alteromonas infernus*. Biochimica and Physica Acta: General Subjects. 1528, 141-151.

Schauenberg P., Parais F. (2005). Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2éme édition. Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel. Suisse. 396 p.

Cushnie TPT, Lamb AJ. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents,26* (5): 343-356.

D

Dworkin MM and Falkow S. (2006). Proteobacteria : Gamma subclass. Ed. Springer, New York, NY, 20, p. 1248.

De Sousa RR, Queiroz KC, Souza AC, Gurgueira SA, Augusto AC, Miranda MA. (2007). Phosphoprotein levels, MAPK activities and NFkappaB expression are affected by fisetin.J *Enzyme Inhib Med Chem*, 22 (4): 439-444.

E

El Kouri, A., Butel-Ponce, V., Assobhei, O., Etahiri, S.(2004). Etude de la variation saisonnière de l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire chez quelques espèces d'algues marines de la côte atlantique marocaine. Review of Biology and Biotechnology. 3, 29-36.

Euzeby, J. P. (2011). List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47: 13-17.

F

Friedman M, Henika PR and Mendrell RE. (2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection*. 65 (10) 1545-1560.

G

Gonzalez A. G., Estevez-Braun A. (1997). Coumarins, *Nat. Prod. Reprod*, 14: 465-475.

Guillaume, P. (2010). Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes-Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de micro-organismes impliquées dans leur adhésion. Thèsede Doctorat en biochimie de l'Université de La Rochelle.Paris, p 29,30.

Gustafson, K. (1989). AIDS-antiviral sulfolipids from cyanobacteria. Journal of National Cancer Institut. 8, 1254-1258.

Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

Garnier Delamare. (1992). Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris.

Gill AO and Holley R A. (2004) Mechanisms of Bactericidal Action of Cinnamaldehyde against *Listeria monocytigenes* and of Eugenol against *L. monocytigenes* and *Lactobacillus Sakei. Applied and Environmental Microbiology*. 70 (10) 5750.

H

Hortense, F. (2011). Les applications et la toxicite des algues marines. *These de doctorat en pharmacie,* Universite de Limoges. France.

HANES D. Nontyphoid Salmonella. In: Miliotis N., Bier J.(2003).(Eds.) International Handbook of Foodborne Pathogens, Marcel Dekker : New York, 137-149.

Harborne J.B., and Williams C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992 Phytochemistry. 55: 481-504.

Harborne J.B. (1998). Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB).

Hartmann T. (2007). From waste products to ecochemicals : Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemisty.* 68 :2831-2846.

Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pons I., Pekkinen J., Kolehmainen M.,Mykkänen H., Poutanen H. (2010). Impact of Dietary Polyphenols On Carbohydrate Metabolism. *Int. J. Mol. Sci*, 11: 1365-1402.

Hostettmann, K. (1992).The potental of higher plants as a source of new drugs. Chemie, 52: 10-17.

Hu F.B.(2003). Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. American Journal of Clinical Nutrition. 78: 544-551

HANSON J. R. (2003). Natural products : the secondary metabolites. Ed. Royaume-Uni : Royal society of chemistry, Italy. 137 p.

HART K.J., YÁNEZ-RUIZD R., DUVALS M., MCEWANN R., NEWBOLDC J. (2008). Plant extracts to manipulate rumen fermentation. Animal feed science and technology. Vol. (147) : 8–35.

HOULT J. R. S., PAYA M. (1996). Pharmacological and Biochemical actions of simple coumarine: Natural Products with Therapeutic potential. Gen Pharmacol. Vol (27): 711-722.

I

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. (1996). Salmonellae. In: ICMSF (Ed.), Microorganisms in Foods 5. Characteristics of Microbial Pathogens. Blackie Academic & Professional: London, 217-264

Ibtissam, C., Hassane, R., Jose, M., Francisco, D., Antonio, G.,Hassan, B., Mohamed, K.(2009). Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. Afr. J. Biotechnol. 8 (7), 1258–1262.

J

Jett, B. D., M. M. Huycke, and M. S. Gilmore. (1994). Virulence of enterococci. Clin. Microbiol. Rev.7:462-478.

K

Ktari, L., Ismail-Ben Ali, A., Ben Redjem, Y., Langar, H.,El Bour, M.(2010). Antifouling activity and chemical investigation of the brown alga *Dictyota fasciola* (Dictyotales) from Tunisian coast. Cahiers de Biologie Marine. 51, 109-115.

Khanbabae K and Ree T.R. (2001). Tannins:Classification and Defenition. Journal of Royal Society of Chemistry. 18: 641-649.(cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

Klein Judith., Marc Verlaque. (2008). The *Caulerpa racemosa* invasion: A critical review.Universite´ de la Me´diterrane´ e, Centre d'Oce´anologie de Marseille, DIMAR UMR 6540, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Case 901,13288 Marseille Cedex 9, France

King A., and Young G. (1999). characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals.Jof the American dietetic association.99:213-218. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

Kansole M.R.(2009) .Etude ethnobotanique,phytochimique et activités biologiques de quelque lamiaceae du Burkina Faso : cas de *Leucasmartinicansis (Jacquin) R.*

KRIEF S .(2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l"alimentation de chimpanzes (pan troglodytes schweinfurthii) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommees. Thése de Doctorat. Museum national d"histoirenaturelle, Ouganda. 49p.

L

Leclerc, V. (2010). Les secrets des algues. 1er Edition Quae, p13

LAMOUTI S., REBZANI C. et BACHARI N.E.I. (2011). Répartition de deux espèces introduites à caractère invasif dans la région centre de la côte algéroise : *Caulerpa racemosa* et *Oculina patagonica*. *Actes de la "Conférence Méditerranéenne Côtière et Maritime"* (Tanger), 2ème édition, p. 361-366.

LE MINOR L. (1984). Genus III. Salmonella, In: Krieg N., Holt, J. (Eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (volume 1), Williams and Wilkins: Baltimore, 1984, 427- 458.

Lugasi A., Hovari J., SagiK., and Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases.J.Acta.biologica. szegediensis. 47 (1-4):119-125.(Cited in Mohammedi Z, 2005)

Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M. (1995). Microbiologie générale, la bactérie et le mondebactérien. Doin Editeurs, Paris.

Le Minor, L., Popoff, M.Y., Bockemuhl, J. (1990). Supplement 1989 to the Kauffmann-White scheme. Res Microbiol 141(3): 1173-1177.

Lancefield, R. C. (1933). A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. J. Exp. Med. 57:571-595.

Lucienne A.D. (2010). Les plantes médicinales d'Algérie.2éme Edition Berti. 20-6.

Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211p.

M

Macheix J.J., Fleuriet A., Jay Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques. 192-1.

Mao, W., Zang, X., Li, Y., Zhang, H. (2005). Sulfated polysaccharides from marine green algae *Ulva conglobata* and their anticoagulant activity. Journal of Applied Phycology. 18, 9-14.

Mauray, S., Sternberg, C., Theveniaux, J., Millet, J., Sinquin, C.,Tapon-Bretaudiere, J., Fisher, A.(1995). Venous antithrombotic and anticoagulent activities of a fucoïdan fraction. Thrombosis and Haemostasis. 74, 1280-1285.

Melzer Mark, Petersen Irene. (2007). Mortality following bacteraemic infection caused by extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing E. coli compared to non- ESBL producing E. coli.Journal of Infection ; 55: 254-259.

Marra Alexandre R, SérgioWey B, AdautoCastelo, Ana Cristina Gales, Ruy Guilherme R Cal, José R do CarmoFilho.(2006). Michael B Edmond and Carlos Alberto P **Megran, D. W. (1992).** Enterococcal endocarditis. Clin. Infect. Dis. 15:63-71.

Manilal, A, Sujith, S., Kiran, G. S., Selvin, J., Shakir, and C., Gandhimathi, R.(2009). Bio-potentials of seaweeds collected from southwest coast of India. *Journal of Marine Science and Technology.*, 17, 67-73.

Madigan MT, Martinko JM, Parker J. (1997). Brock Biology of Microorganisms. Prentice Hall International Editions.

Manou I, Bouillard L, Devleeschouwer MJ and Barel AO. (1998). Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under challenge test. *Journal of Applied Microbiology*. 84, 368-376.

N

Nakajima, K., Yokoyama, A., Nakajima, Y. (2009). Anticancer effects of a tertiary sulfonium compound, dimethylsulfoniopropionate, in green sea algae on Ehrlich ascites carcinoma-bearing mice. Journal of Nutritional Science and Vitaminology. 55, 434-438.
Nizamuddin, M(1991). The Green Marine Algae of Libya. Elga Publisher,Bern.

O

Ould-Ahmed, N., Meinesz, A. (2007). First record of the invasive alga *Caulerpa racemosa* on the coast of Algeria. Cryptogamie, Algologie 28 (3), 303–305.

P

Person, J. (2011). Algues, filieres du futur. Edition Adebiotech. 1er Ed, p 4,59.

Percival SL.(2004). Microbiology of waterborne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston , p. 480.

Ponce, N.M.A., Pujol, C.A., Damonte, E.B., Flores, M.L., Stortz, C.A.(2003). Fucoïdans from the brown seaweed *Adenocystis utricularis*: extraction methods, antiviral activity and structural studies. Carbohydrate Research. 338, 153-165.

Piazzi, L., Meinesz, A., Verlaque, M., Akc, ali, B., Antolic´, B., Argyrou,M., Balata, D.,Ballesteros,E., Calvo, S., Cinelli, F., Cirik, S., Cossu,A., D'Archino, F., Djellouli, A.S., Javel, F., Lanfranco, E., Mifsud, C.,Pala, D., Panayotidis, P., Peirano, A., Pergent, G., Petrocelli, A.,Ruitton, S., Zˇ uljevic´, A., Ceccherelli, G.(2005a). Invasion of Caulerpa racemosa var cylindracea (Caulerpales, Chlorophyta) in the Mediterranean Sea: an assessment of the spread. Cryptogamie Algologie 26 (2), 189–202.

Piazzi, L., Balata, D., Ceccherelli, G., Cinelli, F.(2005b). Interactive effect of sedimentation and Caulerpa racemosa var. cylindracea invasion on macroalgal assemblages in the Mediterranean Sea. Estuarine, Coastal and Shelf Science 64, 467–474.

Paris M et Hurabielle. (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.

Prasad MM, Seenayya G.(2000). Effect of spices on the growth of red halophilic cocci isolated from salt cured fish and solar salt, Food Research International 33: 793-798.

Pereira.(2006) .Nosocomial bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae*: impact of extended-spectrum β-lactamase (ESBL) production on clinical outcome in a hospital with high ESBLprevalence.*BMC Infectious Diseases*, 6:24.

Paulsen, I. T., L. Banerjei, G. S. Myers, K. E. Nelson, R. Seshadri, T. D. Read, D. E. Fouts, J. A.Eisen, S. R. Gill, J. F. Heidelberg, H. Tettelin, R. J. Dodson, L. Umayam, L. Brinkac, M. Beanan, S.Daugherty, R. T. DeBoy, S. Durkin, J. Kolonay, R. Madupu, W. Nelson, J. Vamathevan, B. Tran,J. Upton, T. Hansen, J. Shetty, H. Khouri, T. Utterback, D. Radune, K. A. Ketchum, B. A.Dougherty, and C. M. Fraser. (2003). Role of mobile DNA in the evolution of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. Science 299:2071-2074

PARIS M., HURABIELLE.(1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. .Ed. Masson, Paris. France. 339 p.

Q

Queiroz, K.C.S., Medeiros, V.P., Queiroz, L.S., Abreu, L.R.D., Rocha, H.A.O., Ferreira, C.V., Juca, M.B., Aoyama, H., Leite, E.L.(2008). Inhibition of reverse transcriptase activity of HIV by polysaccharides of brown algae. Biomedicine and Pharmacotherapy. 62, 303-307.

Quinet B, Mitanchez D, Salauze B, Carbonne A, Bingen E, Fournier S, Moissenet D, Vu-Thien H. (2010). Description et investigation d'une épidémie nosocomiale de colonisations et d'infections à Escherichia coli producteur d'une bêta-lactamase à spectre étendu dans un service de néonatologie.Archives de Pédiatrie; 17:S145-S149.

R

Roland, J.C .,Vian B.(1999). Biologie végétal :organisme des plantes sans fleurs 5^{éme} Ed Dunod,Paris.

Richardson J. E., Fay M. F., Cronk Q. C. B., Bowman D. and Chase M. W. A. (2000). phylogenetic analysis of Rhamnaceae using rbcL and trnL-F plastid DNA sequences. Am. J. Boot ;87: 1309-1324.

RUFINI L., SAMPAOLO G. (1977). Plants Off. Aromi. Saponi., Cosmétol. Aerosol. Vol. (59):9-75.

ROUX D., CATIER O. (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3 ème édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China. 141 p.

Rajasulochana P, Dhamotharan R, Krishnamoorthy P. (2009). Primary Phytochemical Analysis of Kappaphycus Sp.Journal of American Science,5(2): 91-96.

S

Santos, M.G.M., Lagrota, M.H.C., Miranda, M.M.F.S., Yoneshigue-Valentin, Y., Wiggdoi, M.D.(1999). A screening for the antiviral effect of extracts from Brazilian marine algae against acyclovir resistant Herpes Simplex Virus Type 1. Botanica marina. 44, 227-230.

SERIDI H. (2007).Étude de la flore algale de l'Algérie, Étude phytosociologique des peuplements algaux photophiles de l'infralittoral superficiel de substrat dur. Thèse de Doctorat, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB), Alger, 174 p.

SERIDI H. et KABRANE K. (2010). Progression de *Caulerpa racemosa* (caulerpales, *Chlorophyta*) sur le littoral algérien. *Actes du "4th Mediterranean Symposium on Marine Vegetation"* (Yasmine-Hammamet), S. EL ASMI, H. LANGAR. et W. BELGACEM édit., Édit. RAC/SPA (Regional Activity Centre for Specially Protected Areas), Tunis, p. 125-128.

Seyoum A., Asres K., and El-Fiky F.K. (2006). Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. Phytochemistry. 67: 2058–2070

T

Tapiero H., Tew K.D., Nguyen B.G., and Mathé G. (2002). Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? Biomed.pharmacother. 56: 200-207.(cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

V

Verlaque, M., Durand, C., Huisman, J.M., Boudouresque, C.F., Le Parco, Y. (2003). On the identity and origin of the Mediterranean invasive *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta). European Journal of Phycology 38, 325–339.

Verlaque, M., Afonso-Carrillo, J., Gil-Rodriguez, M.C., Durand, C.,Boudouresque, C.F., Le Parco, Y. (2005). Blitzkrieg in a marine invasion: Caulerpa racemosa var. cylindracea (Bryopsidales, Chlorophyta) reaches the Canary Islands (north-east Atlantic). Biological Invasions 6, 269–281.

Verlaque, M., Durand, C., Huisman, J.M., Boudouresque, C.F., Le Parco, (2004). On the identity and origin of the Mediterranean invasive *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta). European Journal of Phycology 38, 325–339.

Van Delden C. and Iglewski B. H. (1998). Cell-to-cell signaling and Pseudomonas aeruginosa infections. Emerg. Infect. Dis; 4: 551-5

W

WALLACE R.J.(2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proceedings of nutrition society. Vol. (63) : 621–629.

Y

Yala D., Merad A.S., Mohamedi D et Ouar Korich M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb n°91.

Yadav RNS and Munin Agarwala.(2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants *Journal of Phytology*, 3(12): 10-14.

Z

ZIEGLER J., FACCHINI P.J.(2008). Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. Annu Rev Plant Biol. Vol (59): 735 – 769.

Y

Yabrir, B., Hakem, A., Mostefaoui, A., Laoun, A., Titouche, Y., Labiad, M., Magtouf, L., and Mati, A. (2013). Qualité microbiologique du lait cru ovin collecte dans la steppe centrale de l'Algérie. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie***9**, 86-92.

Yost, C. K., and Nattress, F. M. (2002). Molecular typing techniques to characterize the development of a lactic acid bacteria community on vacuum-packaged beef. *International journal of food microbiology***72**, 97-105.

Yves, L. E. L., and Michel, G. (2009).*Staphylococcus aureus*. Lavoisier. Paris 300p.

Z

Zhong, W., Millsap, K., Bialkowska-Hobrzanska, H., and Reid, G. (1998). Differentiation of Lactobacillus species by molecular typing. *Applied and Environmental Microbiology***64**, 2418-2423.

Annexe

Annexe 1

Gélose Mueller-Hinton

Composition en g/l (**Marchal et al .1982**)

Extrait de viande……..2 g

Hydrolysat acide de caséine ……..…..17,5 g

Amidon……..1,5 g

Agar…….……10g

QSP pour 1litre

Après la préparation du milieu le pH de ce dernier est ajusté à 7,4 puis le milieu stérilisé à 120C° pendant 20 min.

Bouillon nutritif

Peptone ……10g

Chlorure de soudium……...5g

Extrait de viande……10g

QSP pour 1litre

Après la préparation du milieu le pH de ce dernier est ajusté à 7,3 puis le milieu stérilisé à 120C° pendant 20 min.

Annexe II

Les méthodes

Coloration Gram

Une colonie a été prélevée à partir d'une culture sur boite et étalée sur une lame de verre. La lame a ensuite été séchée à l'air libre, passée à la flamme afin de fixer l'échantillon puis laissée refroidir à l'air libre. Après fixation, la lame a été posée sur un porte-objet et colorée avec le violet cristallisé pendant 1 min avant d'être rincée au lugol. Recouverte avec du lugol pendant 1 min, la préparation a ensuite été rincée à l'eau distillée pendant environ 5 s. La lame ainsi rincée, a été soumise à une décoloration à l'éthanol pendant environ 15 s jusqu'à ce que l'étalement ait pris une couleur gris-bleu puis rincée à l'eau distillée pendant environ 5 s avant d'être colorée à la safranine pendant 1 min, rincée à nouveau à l'eau distillée puis séchée. Les lames ont été observées au microscope (objectif 100/ grossissement × 1000).

Annexe III

Méthode de préparation des réactifs pour tests phytochimiques

Réactif de Mayer

Solution A : 1,358 g de chlorure de mercure HgCl2 son dissous dans 60 ml d'eau distillé.

Solution B : 5 g d'iode de potassium KI sont dissous dans 10 ml d'eau distillé ; les solutions A et B sont mélangées extemporanément et le volume final est ajusté à 100 ml avec l'eau distillé.

Réactif de Wagner

2 g de KI et 1,27 g de I sont dissous dans 75 ml d'eau distillée, puis ajusté à 100 ml avec l'eau distillé.

Liqueur de Fehling

Solution A : solution sulfate de cuivre à 40 g/l.

Solution B : 200 g de tartrate de potassium-sodium et 150 g de NaOH pour 1 litre d'eau disstillé.Mélanger les deux solutions à volumes égaux (à mélanger juste avant l'emploi).