

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences Biologiques
Spécialité/Option : Biologie, Santé et Hygiène Hospitalière
Département : Biologie

Thème

Mise en évidence de l'effet antibactérien des cyanobactéries
(Microcystis aeruginosa et Oscillatoria limosa)

Présenté par :

Kemouquette Amina
Khelifati Ahlem
Merah Rim

Devant la commission composée de :

Mme Merabet Rym	Président	Université de Guelma
Mme Amri Sandra	Encadreur	Université de Guelma
Dr. Benhalima Lamia	Examineur	Université de Guelma
Dr. Boussaadia Meriem Imen	Membre	Université de Guelma
Mme Abdaoui Wissem	Membre	Université de Guelma
Mme Braik Asma	Membre	Université de Guelma

Juin 2017

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Allah, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience.

Notre sincère gratitude va à Mme Merabet Rym, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nos remerciements vont à Dr. Benhalima Lamia, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous tenons premièrement à remercier notre encadreur Mme Amri Sandra, de nous avoir accordé l'honneur de diriger ce travail.

Nos remerciements vont aussi à Dr Boussadia Meriem Imen, Mme Abdaoui Wissem et Mme Braik Asma pour avoir accepté être membres dans le Jury de ce modeste travail.

Nous remercions l'ensemble de l'équipe des laboratoires pédagogiques pour leur aide et disponibilité.

Nous remercions, du fond du cœur, nos parents pour leur soutien et leur patience durant nos études et pour leur aide et encouragement

Un merci spécial pour nos collègues et amis.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A mes chers parents source de tendresse, de volonté et de patience: Mohamed et Reguia ; Je vous remercie pour tous ce que vous avez fait pour moi.

A mes chers frères : Azeddine, Nasser et Man ; Je vous remercie d'être toujours à mes côtés, de me soutenir, m'aimer, me protéger.

A ma chère belle-sœur : Assia ; Je vous remercie d'être toujours là, de m'encourager.

A mes chers neveux et nièces.

A mes deux chères camarades de travail Ahlem et Rym pour tous les beaux moments.

Amina

Dédicace

Je dédie ce travail à :

A mes chers parents, qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite. Aucune dédicace ne serait exprimée à leur juste valeur, mon profond respect pour tous les efforts que vous avez fournis pour moi. J'espère qu'un jour je peux leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que dieu leur prête bonheur et longue vie.

A mes frères Malek, Nedjmeddine et Abd Ennour, pour tous les efforts qu'ils ont consentis, pour leur soutien et leur encouragement qu'ils trouvent en ce travail l'expression de ma profonde gratitude.

A mes deux camarades de travail Amina et Rim pour tous les beaux moments.

A mon mari Bassim, et ma belle mère Dalila qui est toujours été le modèle de gentillesse à mon égard.

Ahlem

Dédicace

En ce moment particulier dans ma vie, je tiens à dédier ce modeste travail

À mes très chers parents, vos prières et vos bénédictions m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous vos efforts fournis.

A mes frères, *Assem*, *Nouar* et *Sami*, pour leur aide précieuse durant toutes mes années d'étude ; Et tous mes proches.

A mes deux camarades de travail *Ahlem* et *Amina* pour tous les beaux moments.

Rim

Table des matières

Titre	Page
Remerciements	
Dédicace	
Sommaire	
Liste de figures	
Liste de tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	01
Synthèse bibliographique	
I. 1.Cyanobactéries	02
I.1.1. Caractéristiques généraux.....	02
I.1.1. 1. <i>Microcystisaeruginosa</i>	02
I.1.1.2. <i>Oscillatoria limosa</i>	02
I.1.2.Position taxonomique.....	03
I.1.3. Facteurs favorisant la prolifération des cyanobactéries	03
I.1.4. Bloom à cyanobactérie	04
I.1.5. Effets indésirable de la prolifération des cyanobactéries	04
I.1.6. Effets bénéfique de la prolifération des cyanobactéries	05
I.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques	06
I.2.1.Définition d'un antibiotique	06
I.2.2. Classification des antibiotiques.....	06
I.2.3. Mode d'action des antibiotiques.....	07
III.2.4. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques.....	08
III.2.5. Problèmes causés par les bactéries résistantes.....	08
Matériel et Méthodes	
II.1. Préparation des extraits	09

II.1.1 Récolte du matériel bactérien.....	09
II.1.2. Extraction	09
II.2. Souches bactériennes	09
II.3. Milieux de culture utilisée	10
II.4. Étude de l'activité antibactérienne.....	11
II.4.1. Préparation des extraits	11
II.4.2. Méthode de diffusion en milieu gélosé	11
II.4.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice et Bactéricide.....	11

Résultats et discussion

III.1.Etude de l'effet du DMSO à 2 % sur les souches de référence	13
III.2.Effet des antibiotiques sur les souches de référence.....	13
III.3.Etude de l'activité antibactérienne	16
III.3.1. Extrait aqueux de l'espèce <i>Microcystis aeruginosa</i>	16
III.3.2. Extrait aqueux de l'espèce <i>Oscillatoria limosa</i>	18
III.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide	20
III.4.1.Extrait aqueux de l'espèce <i>Microcystis aeruginosa</i>	20
III.4.2.Extrait aqueux de l'espèce <i>Oscillatoria limosa</i>	21

Conclusion	22
-------------------------	----

Références bibliographiques

Résumés

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Mode d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne.....	07
02	Effet du DMSO à 2 % sur les souches de référence.....	13
03	Action des antibiotiques vis à vis des souches de référence.....	15
04	Effet de l'extrait aqueux de l'espèce <i>Micocystis aruginosa</i> vis à vis des souches de références.....	17
05	Effet de l'extrait aqueux de l'espèce <i>Oscillatoria limosa</i> vis à vis des souches de références.....	19

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Classification biochimique des antibiotiques.....	06
02	Composition des milieux de culture.....	10
03	Effet des antibiotiques sur les souches de référence.....	14
04	Détermination de la résistance et de la sensibilité des souches de références aux antibiotiques.....	14
05	Effet de l'extrait aqueux de l'espèce <i>Microcystis aeruginosa</i>	16
06	Effet de l'extrait aqueux de l'espèce <i>Oscillatoria limosa</i>	18
07	CMI et CMB de l'extrait aqueux de l'espèce <i>Microcystis aeruginosa</i>	20
08	Activité intrinsèque des molécules bioactives.....	20
09	CMI et CMB de l'extrait aqueux de l'espece <i>Oscillatoria limosa</i>	21

Liste des abréviations

% : Pour cent.

µg/ml : microgramme par millilitre.

µl : Microlitre.

BN : Bouillon Nutritif.

C° : Degré Celsius.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

g : gramme.

GN : Gélose Nutritif

h : heure.

mg/ml : milligramme par millilitre.

MH : Muller Hinton.

ml : millilitre.

mm: Millimètre.

pH : potentiel hydrogène.

Introduction

Les cyanobactéries appelées algues bleues vertes, sont des procaryotes photosynthétiques qui se présentent sous forme de cellules isolées, en amas ou en filaments. Ces micro-organismes peuplent une grande variété de milieux aquatiques (**Chorus et Bartram, 1999**). Leur plus sévère nuisance tient à leur propriétés toxiques, régulièrement observées en milieu aquatique et qui constituent un problème majeur à la santé publique (**Codd et al., 2004, Zurawell et al., 2005**). Toutefois, plusieurs travaux ont démontré que les cyanobactéries constituent une nouvelle source de composés bioactifs (**Boyd et al., 1997; 1998**), ils peuvent produire de nombreuses molécules chimiques dont certaines sont très utilisées comme antibiotiques, antiviraux et antitumoraux (**Brunberg et al., 2002**).

L'objectif de notre travail est d'étudier l'activité antibactérienne de deux cyanobactéries : *Microcystis aeruginosa* et *Oscillatoria limosa* vis-à-vis de 4 souches de références : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, d'une part par la méthode de diffusion et d'autre part par la détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide.

Notre travail sera organisé en 3 chapitres :

- Le premier est purement théorique rassemble d'une part des généralités sur les cyanobactéries d'autre part sur la résistance bactérienne aux antibiotiques.
- Le second, est un chapitre expérimental consacré aux méthodes utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne des cyanobactéries.
- Enfin le troisième chapitre, mentionne les différents résultats obtenus au cours de notre étude sous forme des tableaux avec une discussion.

Synthèse
Bibliographique
S

I. 1.Cyanobactéries

I.1.1. Caractéristiques généraux

Le terme cyanobactérie désigne des microorganismes procaryotes à Gram négatif, autotrophes et photosynthétiques, elles sont appelées aussi *Cyanophycées* ou encore algue bleu en raison de la présence de la phycobiline bleue qui leur est propre (**Paerl et al., 2001**). Ces microorganismes présentent des propriétés communes à la fois aux algues et aux bactéries. Comme les algues, les cyanobactéries possèdent de la chlorophylle (a) et non de la bactériochlorophylle et font la photosynthèse oxygénique ; elles sont également à l'origine de toutes les plantes par le phénomène de symbiose primaire et secondaire. Les caractéristiques communes des cyanobactéries et des bactéries sont l'absence de membrane nucléaire, d'organites intracellulaires et la présence d'une paroi cellulaire caractéristique des bactéries à Gram négative (**Bourelly, 1985 ; Prescott et al., 2003**). La multiplication des cyanobactéries est de type asexué (végétatif), elle s'effectue par division binaire d'une cellule mère en deux cellules filles par bourgeonnement ou par divisions multiples. Selon les espèces et les conditions environnementales, les temps de division des cellules varient de quelques heures à plusieurs jours (**Briand et al., 2008**).

I.1.1. 1. *Microcystis aeruginosa*

Microcystis aeruginosa est une espèce de cyanobactéries d'eau douce qui peut former des proliférations d'algues nuisibles d'importance économique et écologique (**Oberhoster, 2004**). Le genre *Microcystis* se caractérise par de petites cellules organisées en colonies (dont les grandes colonies peuvent être vues à l'œil nu). Le protoplaste est de couleur bleu-vert clair, apparaissant sombre ou marron en raison des effets optiques des vésicules remplies de gaz ; cela peut être utile comme caractéristique distinctive. Ces vésicules fournissent la flottabilité nécessaire pour que l'espèce *Microcystis aeruginosa* qui reste à un niveau dans la colonne d'eau à laquelle ils peuvent obtenir des niveaux optimaux de lumière et de dioxyde de carbone pour une croissance rapide (**Satoshi et al., 2000**).

I.1.1.2. *Oscillatoria limosa*

Oscillatoria limosa est une espèce de cyanobactérie filamenteuse dont le trichome est libre, solitaire et dépourvue de gaine. Le mouvement et le déplacement hélicoïdal de l'apex sont caractéristiques de ce genre. Cette espèce produit une microcystine, c'est la cyanotoxine la plus fréquemment rencontrées en milieu naturel (**Chorus et Bartram, 1999**), elle a été

détectées partout dans le monde, et dans les plans d'eau aux caractéristiques physico-chimiques variables. (Scheffer *et al.*, 1997).

I.1.2. Position taxonomique

Les cyanobactéries ont été considérées pendant plus de 150 ans comme des algues eucaryotes, ce sont les travaux de **Gibbon et Murray (1978)** et de **Stanier *et al.*, (1962)** qui ont permis leur intégration dans le règne des procaryotes (**Neilanet *al.*,2003**). Les cyanobactéries forment même une classe à part au sein du règne des eubactéries (**Castenhol, 2001**). En fait, les cyanobactéries sont à ce jour, les seules représentantes du groupe des bactéries photosynthétiques oxygéniques (**Prescott *et al.*, 2003**). Ces vingt dernières années, face à l'émergence et au développement des nouveaux outils moléculaires, la classification des cyanobactéries n'a cessé d'être remise en question (**Komarek, 2006**). Les cyanobactéries sont reconnues à la fois par le code international de nomenclature botanique (**Greuteret *al.*, 2000**) et par le code international de nomenclature bactériologique (**Lapage *et al.*,1992**). Les deux systèmes de classification se base sur des caractères morphologiques (**Bourelly, 1985**) tels que :

- Aspect : unicellulaire, coloniale et filamenteuse.
- Aspect et la forme de colonie pour les formes coloniales.
- Taille et forme des cellules végétatives.
- Présence ou l'absence de vacuoles à gaz.
- Présence ou l'absence d'hormogonies et la mobilité des hormogonies.
- Différenciation cellulaire : hétérocystes et akinètes.
- Polarité : base et apex du filament.
- Gaine : absence ou présence.
- Ramifications vraies ou fausses.

I.1.3. Facteurs favorisant la prolifération des cyanobactéries

Les proliférations des cyanobactéries sont le plus souvent associées à trois facteurs principaux (**Levi *et al.*, 2006**) :

- Facteurs physico-chimiques de l'eau.
- Stabilité de la colonne d'eau.
- Conditions météorologiques favorables.

I.1.4. Bloom à cyanobactérie

Les cyanobactéries ont la capacité de proliférer de manière massive lorsque les conditions leur sont favorables, typiquement dans les eaux de 20 à 30 °C, de pH entre 6 et 9, à faible turbulence, à forte intensité lumineuse et à des teneurs élevées en phosphore et / ou azote (**Oberholster et al., 2004**). Les blooms ou efflorescences peuvent se former en 2 jours et se maintenir entre une et plusieurs semaines (**Paerl et al., 2001**). Ils disparaissent souvent lorsque les conditions changent (brassage des eaux, diminution de l'intensité lumineuse) en fin de période estivale. De plus, le réchauffement climatique semble agir comme un catalyseur favorisant les proliférations de cyanobactéries partout dans le monde (**Paerl et Huisman, 2008**). Donc le développement des blooms est dû à une combinaison interactive de facteurs environnementaux. La présence simultanée de fortes températures et de concentrations importantes en nutriments est considérée comme le facteur le plus important pour le contrôle de la dominance des cyanobactéries (**Brient et al., 2001**).

I.1.5. Effets indésirable de la prolifération des cyanobactéries

L'exposition aux cyanobactéries a permis de démontrer leur potentiel toxique chez l'humain de manière spectaculaire (**Azevedo et al., 2002**). Par ailleurs, à partir d'études épidémiologiques menées en chine, l'augmentation de l'incidence des carcinomes hépatiques dans certaines régions a été suggérée comme étant associée à l'ingestion régulière d'eau de surface contaminée par les cyanobactéries (**Chorus, 2001**). Outre les intoxications humaines, de très nombreux cas d'intoxications aiguës d'animaux domestiques ou sauvages dues aux cyanobactéries ont été décrites sur tous les continents (**Chorus Bartram, 1999, Briand et al., 2003**). La présence de toxines a été rapportée dans pratiquement toutes les régions où les cyanotoxines ont été étudiées, faisant de la toxicose un problème d'envergure mondiale (**Ernst et al., 2005**). Les toxines de cyanobactéries sont généralement classées selon leur mode d'action en :**Hépatotoxines** : Les hépatotoxines comprennent les micro-cystines (hépta peptides cycliques), et la nodulaire toxine apparentée (penta peptide cyclique). Les variations dans la structure chimique de la microcystines-LR sont nombreuses, et 48 types différents ont été caractérisés (**Sivonen, 1996**). Des expositions chroniques à ces toxines peuvent provoquer des cancers (**Falconer, 1996**).

- **Cyto-toxines** : Les cyto-toxines comprennent principalement la Cylindrospermopsine, un alcaloïde isolé et caractérisé à partir de *Cylindrospermopsis raciborskii*. Il existe d'autres cyto-toxines indéterminées associées aux Cyanobactéries (**Falconer, 1996**).
- **Neuro-toxines** : Les toxines responsables sont l'anatoxine A (un alcaloïde) et l'anatoxine A (s) (un méthyle phosphate ester guanidine) (**Carmichael et Falconer, 1993**). Aucun cas d'intoxication n'a été répertorié, car il semble peu probable qu'un empoisonnement humain puisse survenir par suite de la consommation d'eau contaminée ou d'un contact (**Falconer, 1996**).
- **Dermato-toxines** : Les toxines de ce type sont : les aplysiatoxines, la débromoaplysiatoxine et la lyngbyatoxine A (**Hansen et al., 2001**), ces toxines sont de très puissants promoteurs tumoraux (**Falconer, 1993**).
- **Endotoxines lipopolysaccharidiques** : Les endotoxines de nature lipopolysaccharidique (LPS) sont des constituants de la membrane cellulaire des Cyanobactéries comme celles des autres bactéries à Gram négatif (**Pitois et al., 2001**). Certaines études ont montré que les LPS des Cyanobactéries seraient dix fois moins toxiques que celles des autres bactéries à Gram négatif (**Codd et al., 2005**). Les LPS ont un effet toxique, lors d'un contact direct avec la peau (**World Health Organization, 1998**).

I.1.6. Effets bénéfique de la prolifération des cyanobactéries

Hormis leurs effets néfastes, les cyanobactéries ont des avantages bénéfiques pour l'Homme et l'environnement qui peuvent être résumé comme suites :

- Modeler la biosphère terrestre par fixation du CO₂ et la libération de l'O₂ (**Sabart, 2009**). Outre, la photosynthèse ; ils assurent chez certaines espèces la fixation de l'azote atmosphérique, propriété qui a fait utiliser certaines cyanophycées (*Anabaena, Nostoc*) comme engrais verts au même titre que les légumineuses ; elles sont donc utilisées comme source d'azote en riziculture (**Charpy et al., 2004**).
- Participent au fonctionnement du milieu et en particulier à l'autoépuration des cours d'eau (**Sabart, 2009**).
- Elles peuvent produire de nombreuses molécules chimiques dont certaines sont très utiles utilisé comme d'antibiotiques, d'antiviraux et d'antitumoraux (**Brunberg et al., 2002**).
- Le genre *spirulina* est riche en protéines, micronutriments, beta-carotène, vitamine B12, acides gras, calcium et potassium qui sont importants pour la formation des os.

Ces effets contre l'anémie ont été démontrés grâce à sa haute teneur en fer. Compte tenu de ses caractéristiques, la culture de la spiruline pourrait être une solution pour améliorer la santé humaine et aider à diminuer l'excès de cholestérol (**Charpy et al., 2004**). Les effets de la spiruline sur les maladies diabétiques et hépatiques ainsi que sur l'acné sont intéressants. Au plus elle a un effet préventif contre le cancer grâce à sa nature teneur en antioxydants comme la phycocyanine (**Charpy et al., 2004**).

I.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques

I.2.1. Définition d'un antibiotique

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique (élaborée par un organisme vivant), substance chimique (produite par synthèse) ou substance semi synthétique (obtenue par modification chimique d'une molécule naturelle) qui peuvent inhiber ou détruire spécifiquement les bactéries sans être toxiques pour l'hôte (**Pilly, 1975**).

I.2.2. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques n'est pas facile, ils peuvent être regroupés selon leur nature, origine, mode d'action, spectre d'activité. À l'heure actuelle les antibiotiques sont regroupés selon leur nature biochimique (**Tableau 01**).

Tableau 01 : Classification biochimique des antibiotiques (**Joffin et Leyral, 2006**).

Classe d'antibiotiques	Exemples
Aminosides	Streptomycine, Kanamycine, Gentamicine
β-lactamines–Penicillines	Penicilline G, Ampicilline
β-lactamines-Cephems et Oxacephems	Cefalotine, Céfotaxime
β-lactamines- Monobactams	Aztréonam
Fosfomycine	Fosfomycine
Lincosamides	Clindamycine, Lincomycine
Macrolides	Erythromycine, Spiramycine
Nitrofuranes	Nitrofurantoïne
Nitro-5- Imidazolés	Métronidazole
Phénicoles	Chloramphénicol, Ethiamphénicol
Polypeptides	Bacitracine, Colistine polymyxine
Quinolones	Acide naldixique
Sulfamides et sulfones	Sulfaméthoxazoletriméthoprim
Streptogramines	Pristinamycine, Virginiamycine
Tetracyclines	Tetracyclineminocycline
Vancomycines	Vancomycine

I.2.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques mettent en jeu des mécanismes d'action (**Fig.01**) d'une grande diversité en relation avec la variété de leur composition chimique et la structure des germes contre lesquels ils peuvent être appliqués. Les différents modes d'action peuvent être résumés comme suit :

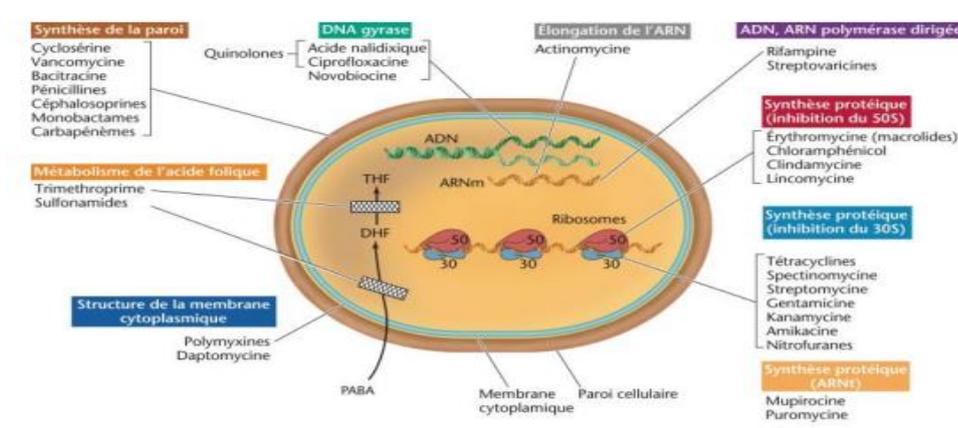


Figure 01 : Mode d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne (**Singh et Barrett, 2006**)

- **Action sur la paroi bactérienne** : L'antibiotique peut bloquer la synthèse de la paroi et la cellule bactérienne peut exploser sous l'effet de la pression osmotique interne.
- **Action sur la membrane cellulaire** : L'antibiotique peut agir sur les lipides membranaires, il désorganise la bicouche phospholipidique membranaire, ce qui entraîne les éléments hydrosolubles à l'extérieur de la cellule.
- **Action sur l'ADN** : L'antibiotique peut se fixer sur les brins de l'hélice de l'ADN et empêcher la réplication en bloquant la progression de l'ADN polymérase.
- **Action sur les ribosomes bactériens** : De nombreux antibiotiques utilisés en thérapeutique ont pour cible les ribosomes bactériens. L'antibiotique se fixe soit sur la petite ou la grosse sous-unité, ce qui inhiberait la synthèse des protéines.
- **Transcription** : L'ARN polymérase assure la transcription de l'ARNm nécessaire à la synthèse des protéines. Certains antibiotiques peuvent bloquer la transcription de l'ADN en se fixant sur l'ARN polymérase bactérienne.
- **Anti métabolite** : Certains antibiotiques peuvent agir comme des agents anti-métabolites, ils bloquent le fonctionnement des voies métaboliques en inhibant par

compétition l'utilisation de métabolites par des enzymes clés. (Ferron, 1984 ; Joffin et Leyral, 2006 ;).

III.2.4. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leurs introductions dans le traitement des maladies infectieuses, les principaux mécanismes élucidés à ce jour sont :

- **Perméabilité limitée à l'antibiotique** : les bacilles à Gram négatif sont naturellement résistants, le plus souvent aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masses moléculaires élevées, car ces antibiotiques ne peuvent traverser la membrane externe de la paroi.
- **Production d'enzymes inactivant l'antibiotique** : certaines bactéries produisent des β -lactamases, enzymes présentes dans l'espace péri-plasmique de la bactérie. Elles permettent la destruction de l'antibiotique avant qu'ils puissent atteindre leurs cibles.
- **Résistance par transfert de gènes** : Elle est due à l'acquisition d'un plasmide ou d'un transposon codant pour des protéines conférant une résistance accrue à des familles d'antibiotiques, elle peut être transmissible entre bactéries d'espèces différentes.
- **Résistance par mutation chromosomique** : Elle est due à des mutations qui se produisent au hasard sur le chromosome bactérien, la mutation chromosomique ne s'exerce que vis-à-vis d'un seul antibiotique et n'est en principe pas transférable d'une espèce bactérienne à l'autre.
- **Modification de la cible ou absence de récepteur** : modification des PLP (protéines liant les pénicillines) sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane et qui est la cible des β -lactamines. La fixation des β -lactamines aux PLP empêcherait la synthèse du peptidoglycane. (Senez, 1968)

III.2.5. Problèmes causés par les bactéries résistantes

L'utilisation massive des antibiotiques a provoqué la généralisation de la résistance bactérienne, ce qui peut se répercuter sur l'être humain de différentes manières :

- Propagation des infections nosocomiales.
- Augmentation des interventions chirurgicales.
- Utilisation d'antibiotiques plus coûteux.
- Échec du traitement et risque de complications.

- Prolongation de la durée de séjour en établissement hospitalier.
- Augmentation du taux de mortalité. (**Senez, 1968**)

Matériel
et
Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait

II.1.1. Récolte du matériel bactérien

Le matériel biologique utilisé pour cette étude a été récupéré à partir de deux efflorescences de cyanobactéries. L'espèce *Microcystis aeruginosa* a été récoltée au mois de Septembre 2016 à partir du lac Oubeira. Alors que l'espèce *Oscillatoria limosa* a été récoltée au mois de Juin 2016 à partir du lac Tonga. Ces deux lacs font partie du parc national d'El Kala (Wilaya d'El Taref).

II.1.2. Extraction

Afin de réaliser notre travail, nous avons préparées un extrait aqueux pour chaque espèce, l'extraction a été réalisé au laboratoire EMMAL (Eco-biologie des milieux marins et littoraux - Université de Badji Mokhtar - Annaba). Une macération a été réalisée sous agitation durant 24 heures, les filtrats récupérés étaient évaporer au Rotavapeur afin d'éliminer le solvant d'extraction, puis lyophilisés et conservés dans des flacons stériles hermétiquement fermés.

II.2. Souches bactériennes

Les germes utilisés sont des souches de référence ATCC (American Type Culture Collection), ils constituent d'excellents modèles pour la recherche de l'effet antibactérien des substances naturelles ou de synthèses. Les souches utilisés été fourni à partir de l'hôpital de Guelma (Ibn Zohr) :

- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

II.3. Milieux de culture utilisée

Suivant les méthodes employées et les souches étudiées, les milieux utilisés sont les suivants : gélose nutritive, gélose Chapman, gélose Muller Hinton, le bouillon nutritif et le bouillon Muller Hinton. La composition des milieux est indiquée dans le **Tableau 02**.

Tableau 02 : Composition des milieux de culture (Joffin et Leyral, 2006).

Milieux	Composition des milieux de culture
Gélose nutritive	Extrait de viande.....1g
	Extrait de levure.....2,5g
	Peptone.....5g
	Chlorure de sodium.....5g
	Agar Agar.....15g
	Eau distillée.....1000ml
	pH = 7
Gélose Chapman	Peptone10 g
	Extrait de viande de bœuf 1g
	Chlorure de sodium75g
	Mannitol :.....10g
	Rouge de phénol0,025g
	Agar Agar15g
	Eau distillée1000ml
pH = 7,4	
Gélose MH	Infusion de viande de boeuf (déshydratée)300 g
	Hydrolysate de caséine 017,5 g
	Amidon01,50 g
	Eau distillée1000 ml
	Agar Agar 17,00 g
	pH = 7,5
Bouillon nutritif	Extrait de viande1g
	Extrait de levure.....2.5 g
	Peptone5 g
	Chlorure de sodium.....5 g
	Eau distillée1000 ml
	pH = 7
Bouillon MH	Infusion de viande de bœuf (déshydratée)300 g
	Hydrolysate de caséine17,5 g
	Amidon01,50 g
	Eau distillée1000 ml
	pH = 7,5

II.4. Étude de l'activité antibactérienne

II. 4.1. Préparation des extraits

Les deux extraits préparés au paravent sont repris dans du DMSO à 2% à raison de 200 mg/ ml.

II.4.2. Méthode de diffusion en milieu gélosé

L'activité antibactérienne des 2 extraits a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par (**Bauer et al., 1966**) et reprise par (**Barry et al., 1985**). A partir de colonies jeunes de 18 à 24 heures, une suspension bactérienne est réalisée dans de l'eau physiologique stérile à 0,9% de NaCl est préparée pour chaque souche bactérienne. La turbidité de cette suspension est ajustée à 0,5 Mc Farland puis diluée (1/100) afin d'obtenir un inoculum de 10^6 bactéries/ml (pour l'espèce *Staphylococcus aureus* l'inoculum est dilué à 1/10). Cet inoculum est étalé à l'aide d'un écouvillon sur boîtes Pétri contenant de la gélose Mueller-Hinton. L'extrait est déposé sur des puits réalisés avec des billes stériles avant solidification de la gélose. Les boîtes Pétri sont d'abord laissées pendant 2 h à 4°C pour une pré-diffusion de l'extrait avant d'être incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures. L'évaluation de l'inhibition est réalisée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits. Nous avons utilisé un témoin négatif (DMSO à 2 %) et un témoin positif (disques d'antibiotiques). Le choix des antibiotiques a été réalisé selon la disponibilité du laboratoire.

II.4.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide

La détermination de la concentration minimal inhibitrice (CMI) et de la concentration minimal bactéricide (CMB) a été réalisée selon la méthode décrite par (**Bolou et al., 2010**). La CMI est préparée selon la méthode de double dilution, une gamme de concentrations stérile allant de 125 à 500 mg/ml a été préparée pour chaque extrait, on prépare également pour chaque souche bactérienne un inoculum dont la turbidité est ajustée à 0,5 Mc Farland puis diluée (1/100) afin d'obtenir un inoculum de 10^6 bactéries /ml dans du bouillon Mueller-Hinton (pour l'espèce *Staphylococcus aureus* l'inoculum est dilué à 1/10). Ensuite on ajoute dans des tubes à hémolyse, 1 ml de chaque concentration et 1 ml d'inoculum

bactérien, les tubes sont mélangés puis incubés à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation, on examine la croissance bactérienne dans chaque tube qui se traduit par une turbidité. La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée sera la plus petite concentration ne montrant aucune croissance visible.

Pour déterminer la CMB, on réalise 24 heures plus tôt, un témoin bactéricide en ensemencant par stries une gélose nutritive en boîte Pétri, la solution mère et les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} de l'inoculum de départ correspondant respectivement à 100 %, 10 %, 1 %, 0,1 % et 0,01 % de survivants. Après la lecture de la CMI on effectue des repiquages en stries en gélose nutritive des tubes sans croissance visible. Ces repiquages sont ensuite incubés à 37 °C pendant 24 heures, après on compare les stries au témoin bactéricide. La CMB sera la plus petite concentration dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale à 0,01 % de survivants.

Résultats

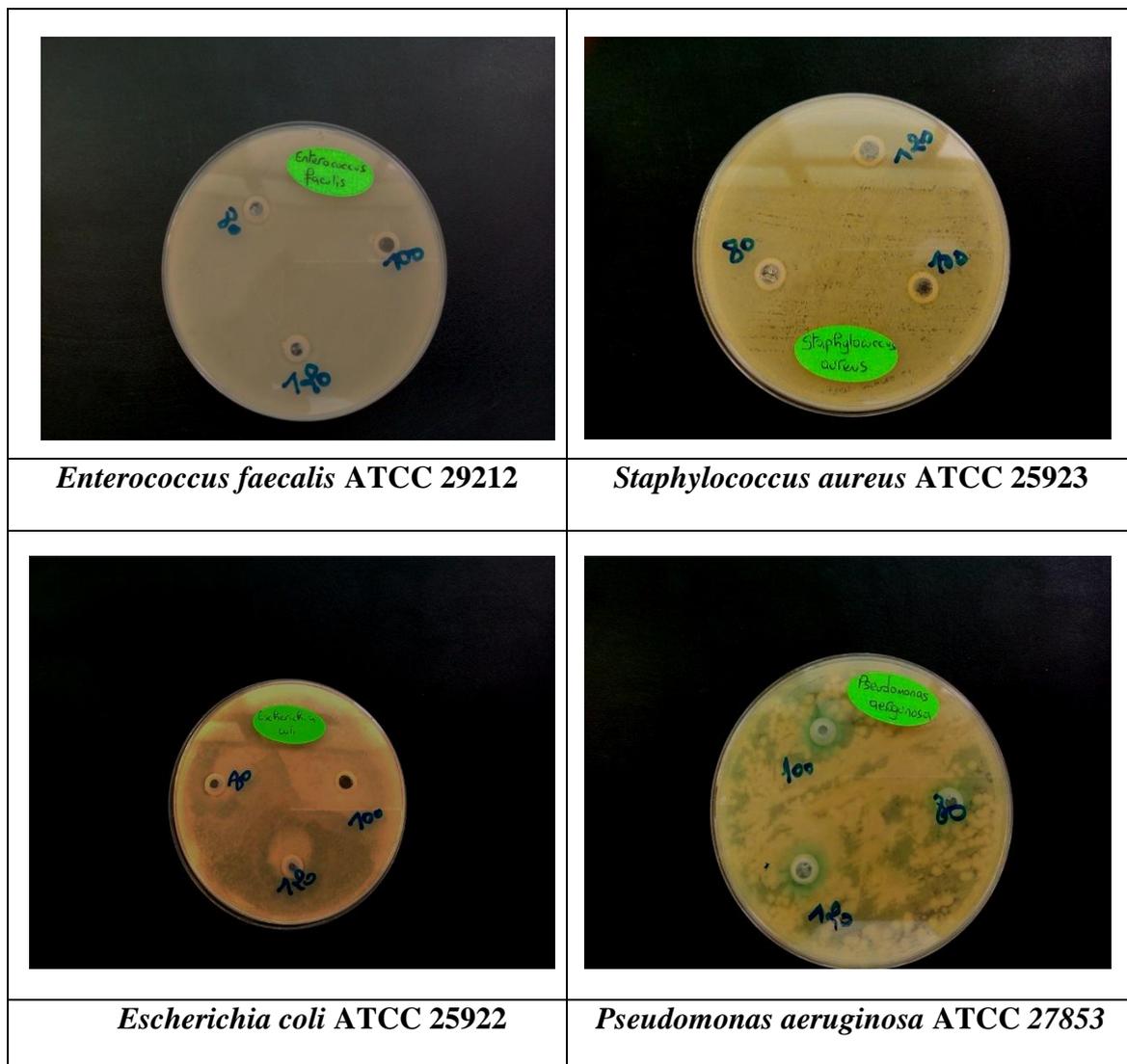
et

Discussion

III.1. Effet du DMSO sur les souches de référence

Afin de soumettre les extraits aux essais biologiques, la toxicité du solvant peut également être critique car même en traces, le solvant ne devrait pas empêcher le procédé biologique (Yrjöen, 2004), Pour cela le DMSO à 2 % a été testé, le résultat obtenu ont indiqué que le DMSO à 2 % est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches de références (Figure 02).

Figure 02 : Effet du DMSO à 2 % sur les souches de référence.



III .2. Effet des antibiotiques sur les souches de référence

Or mis le DMSO à 2 %, la sensibilité des souches aux antibiotique a été testé avant de

soumettre les souches bactériennes aux essais biologiques, la résistance bactérienne peut également être critique. Pour cela 4 antibiotiques ont été testé comme témoin positive, les résultats obtenus sont indiqués dans les **tableaux 03 et 04** et les photos présent dans la **Figure 03**

Tableau 03 : Zones d'inhibitions des antibiotiques (mm) sur les souches de référence.

Souches de références	Penicilline (P10)	Erythromycine (E15)	Imipenem (Imi10)	Vancomycine (Va30)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7,66 ± 1,54	7,33 ± 0,57	6,66 ± 0,57	8,33 ± 0,57
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	7,33 ± 0,57	9 ± 0	7 ± 1	10,33 ± 0,57
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	24 ± 0	29 ± 1	7,66 ± 0,57	18,66 ± 0,57
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	6,66 ± 0,57	8 ± 0	7 ± 0	6,66 ± 0,57

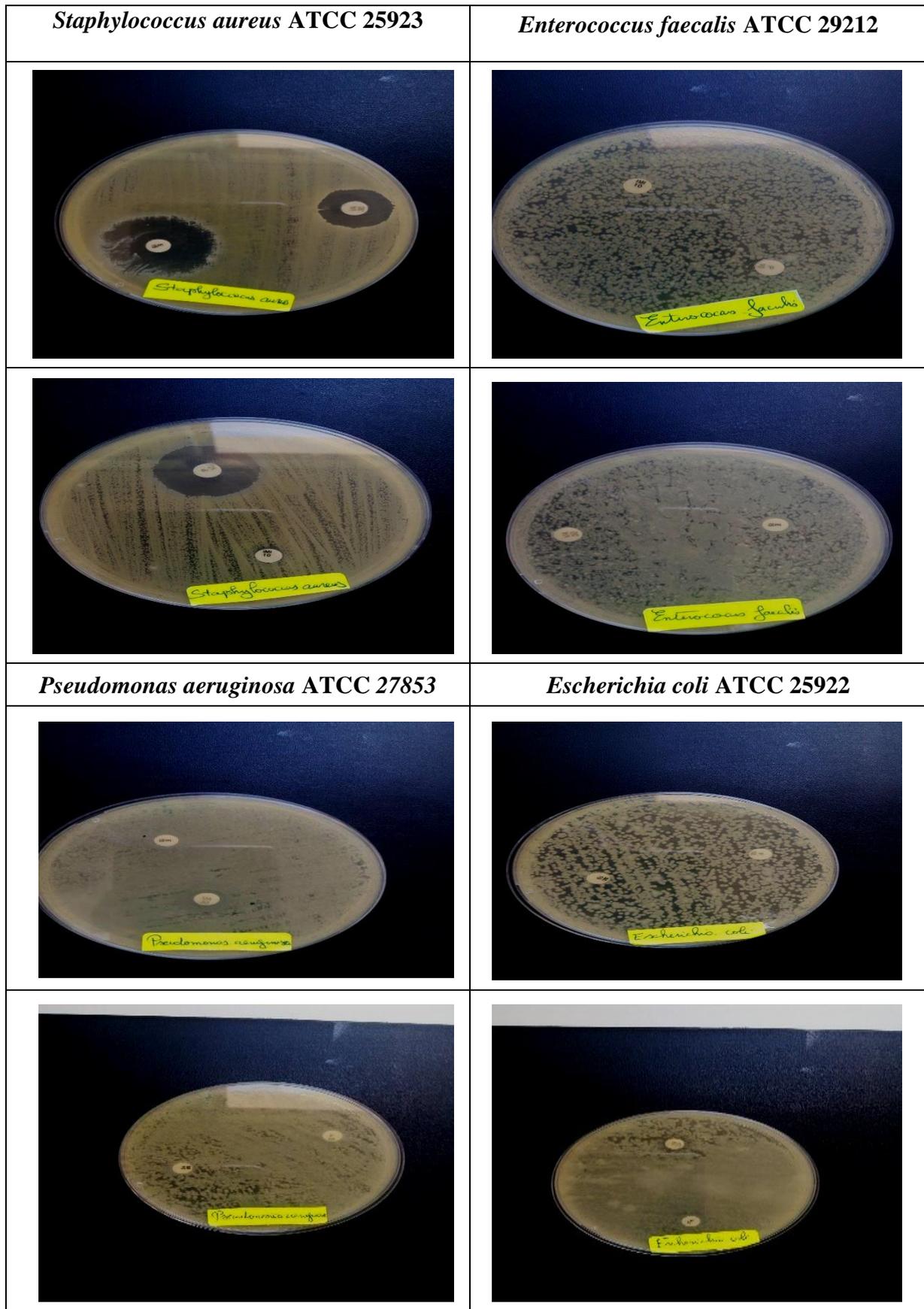
Tableau 04 : Détermination de la résistance et de la sensibilité des souches de références vis à vis des antibiotiques.

Souches de références	Penicilline (P10)	Erythromycine (E15)	Imipenem (Imi10)	Vancomycine (Va30)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Intermédiaire	Sensible	Résistante	Sensible
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante

Pour les bactéries à Gram +, l'espèce *Staphylococcus aureus* serait plus sensible à l'action de 2 antibiotiques (érythromycine, vancomycine) avec des diamètres de l'ordre de 29 et 18,66 mm respectivement et intermédiaire pour la pénicilline avec un diamètre de 29 mm. Cependant l'espèce *Enterococcus faecalis* est résistante à l'action de tous les antibiotiques testés (pénicilline, érythromycine, imipenem et vancomycine) avec des diamètres de l'ordre de 6,66 ; 8 ; 7 et 6,66 mm respectivement.

Cependant pour les souches de référence à Gram négatif, l'espèce *Escherichia coli* est résistante a l'action de tous ces antibiotiques (pénicilline, érythromycine, imipenem et vancomycine) avec des diamètres de l'ordre de 7,66 ; 7,33 ; 6,66 ; 8,33 mm respectivement. Aussi l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* est résistante a l'action de tous ces antibiotiques (pénicilline, érythromycine, imipenem et vancomycine) avec des diamètres de l'ordre de 7,33 ; 9 ; 7 ; 10,33 mm respectivement.

Figure 03 : Action des antibiotiques vis a vis des souches de référence.



E₁₅ = Erythromycine (15µg) - **P₁₀** = Pénicilline - **VA₃₀** = Vancomycine - **IMI₁₀** = Imipenème (10µg)

III. 3. Etude de l'activité antibactérienne des cyanobactéries

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien de 2 extraits aqueux isolés à partir de l'espèce *Microcystis aeruginosa* et *Oscillatoria limosa* par la méthode de diffusion en milieu gélosé. L'activité antibactérienne de nos extraits a été déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition au tour des puits.

III .3.1. Extrait aqueux de l'espèce *Microcystis aeruginosa*

Les résultats obtenus à partir de cet extrait sont représentés dans le **Tableau 05** et les photos présent dans **la figure 04**. Les résultats obtenus ont indiqué que les zones d'inhibition sont en relation avec la quantité de l'extrait pour toutes les espèces bactériennes.

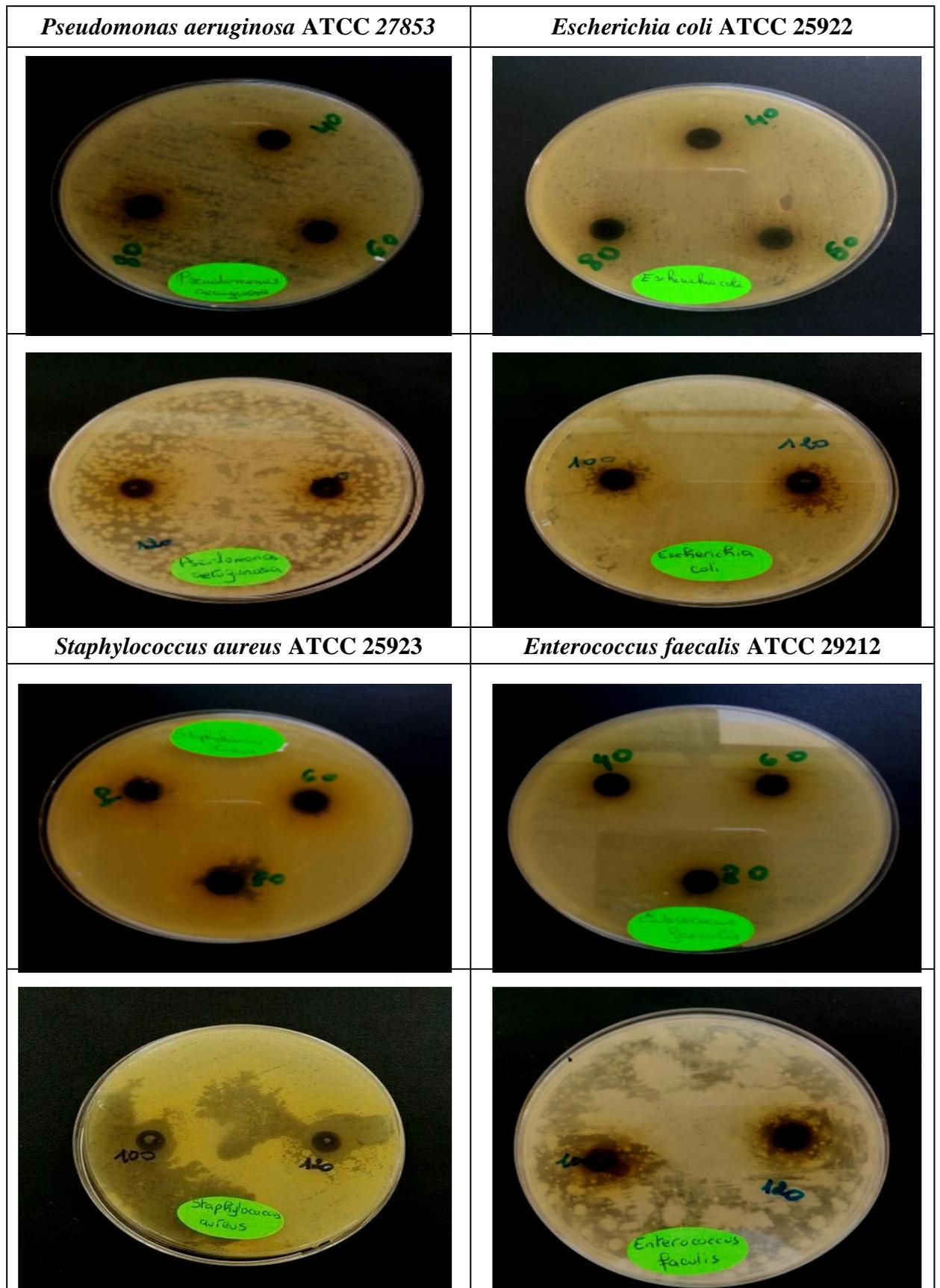
Tableau 05 : Effet de l'extrait aqueux de l'espèce *Microcystis aeruginosa*

Souches de références	Zones d'inhibitions (mm)				
	40 mg	60 mg	80 mg	100 mg	120 mg
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	00 ± 00	00 ± 00	11 ± 1	12,67 ± 0,58	12,67 ± 1,15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	6,33 ± 5,51	10,33 ± 0,58	12 ± 00	14,33 ± 0,58	19,67 ± 1,53
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00	11,67 ± 0,58	13,67 ± 0,58

Les zones d'inhibitions ont montré que la souche *Staphylococcus aureus* est sensible à l'action de cet extrait ; ce dernier est actif même à faible quantité avec des diamètres croissants de l'ordre de 6,33 ± 5,51, 10,33 ± 0,58, 12 ± 00, 14,33 ± 0,58 et 19,67 ± 1,53 mm. Pour l'espèce *Enterococcus faecalis* ; l'extrait n'a indiqué des zones d'inhibition qu'à partir de 100 mg.

Pour l'espèce *Escherichia coli* ; cet extrait n'a pas indiqué un effet à 40 et 60 mg par contre il a indiqué des zones d'inhibitions de l'ordre de 11 ± 1 ; 12,67 ± 0,58 et 12,67 ± 1,15 mm à 80, 100 et 120 mg respectivement. Par contre pour l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* aucun effet n'a été retrouvé pour toutes les concentrations.

Figure 04 : Effet de l'extrait aqueux de l'espèce *Micocystis aruginosa* vis à vis des souches de références.



III .3.2. Extrait aqueux d'espèce *Oscillatoria limosa*

Les résultats obtenus à partir de cet extrait sont représentées dans le **tableau 06** et les photos présent dans **La figure 05**

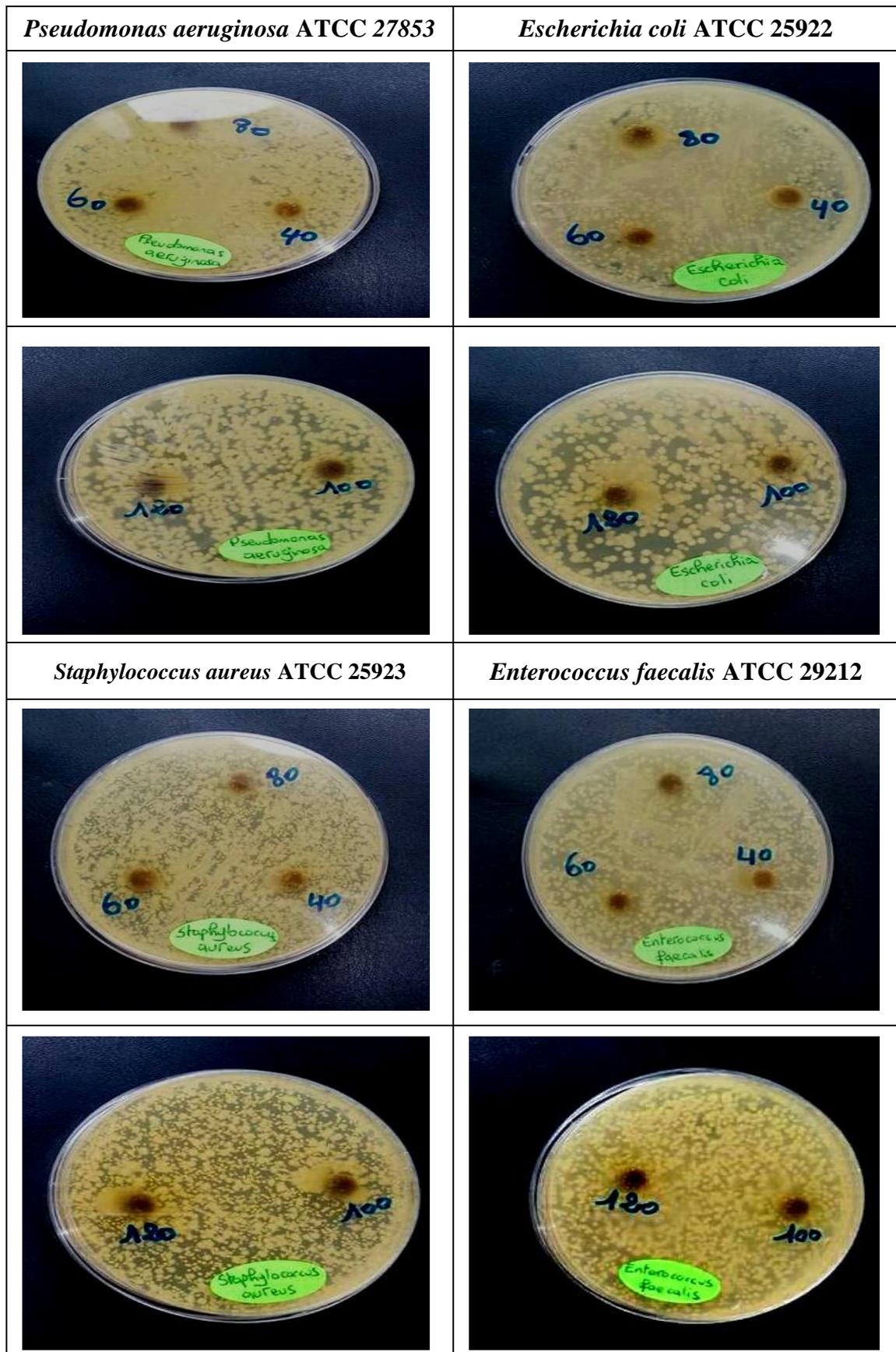
Tableau 06 : Effet de l'extrait aqueux de l'espèce *Oscillatoria limosa*

Souches de références	Zones d'inhibitions (mm)				
	40 mg	60 mg	80 mg	100 mg	120 mg
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00	10,31 ± 0,58	11 ± 1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	00 ± 00	10 ± 1	10,33 ± 0,58	10,67 ± 0,58	11,33 ± 0,58
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	00 ± 00	10,33 ± 0,58	11 ± 0	11 ± 0	11,67 ± 0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00	13,67 ± 0,58

Pour l'espèce *Staphylococcus aureus* à 40 mg l'extrait n'a aucun effet, cependant à 60, 80, 100 et 120 mg, la bactérie a indiqué des zones d'inhibition de l'ordre de 10,33 ± 0,58, 11 ± 0, 11 ± 0 et 11,67 ± 0 mm respectivement. L'espèce *Enterococcus faecalis* a dévoilé une zone d'inhibition de l'ordre de 13,67 ± 0,58 mm seulement à 120 mg.

Pour l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* ; l'extrait n'a aucun effet à 40 à mg, par contre de des zones d'inhibition de l'ordre de 10 ± 1 ; 10,33 ± 0,58 ; 10,67 ± 0,58 et 11,33 ± 0,58 mm ont été retrouvé à 60, 80, 100 et 120 mg respectivement. L'espèce *Escherichia coli*, a indiqué des zones d'inhibitions qu'à partir de 100 mg.

Figure 05 : Effet de l'extrait aqueux de l'espèce *Oscillatoria limosa* vis à vis des souches de références.



III.4.Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide

III.4.1. Extrait aqueux de l'espèce *Microcystis aeruginosa*

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricide (CMB) de l'extrait étudiés vis-à-vis d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* sont mentionnées dans le **tableau 7**.

Tableau 7: CMI et CMB de l'extrait aqueux de l'espèce *Microcystis aeruginosa*.

Souches de références	CMI	CMB	CMB/CMI
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	100	300	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	100	150	1,5
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	100	150	1,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	100	300	3

L'activité minimale inhibitrice de l'extrait de *Microcystis aeruginosa* a été révélée à une concentration de 100 mg/ml pour toutes les souches de références. Cependant l'activité minimale bactéricide la plus faible est notée sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis* avec une concentration de 150 mg/ml. Cependant l'espèce *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* la CMB été de l'ordre de 300 mg/ml.

La grille de classification de l'activité intrinsèque des molécules bioactives est indiquée dans le **tableau 8**.

Tableau 8 : Activité intrinsèque des molécules bioactives [2].

CMB /CMI	Activité intrinsèque
4	Effet bactéricide
8 – 16	Effet bactériostatique
32	Effet de tolérante

La comparaison du rapport CMB / CMI des souches des références aux valeurs intrinsèques des molécules bioactives, permet d'indiqué que cet extrait présente un effet bactéricide vis à vis

des souches de références.

III.4.2. Extrait aqueux de l'espèce *Oscillatoria limosa*

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricide (CMB) de l'extrait étudié vis-à-vis d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* sont mentionnées dans le **tableau 9**

Tableau 9 : CMI et CMB de l'extrait aqueux de l'espèce *Oscillatoria limosa*

Souches de références	CMI	CMB	CMB/CMI
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	150	300	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	50	150	3
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	100	300	3
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	100	300	3

Selon ces résultats, l'activité minimale inhibitrice de l'extrait a été révélée à une concentration de 50 mg/ml pour *Pseudomonas aeruginosa* ; 100 mg/l pour *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* ; et à 150 mg/l pour *Escherichia coli*.

L'activité bactéricide la plus faible est notée pour *Pseudomona aeruginosa* (150 mg/l) cependant pour *Staphylococcus aureus* ; *Enterococcus faecalis* et *Escherichia coli* la CMB été de 300 mg/l.

La comparaison du rapport CMB / CMI des souches des références aux valeurs intrinsèques des molécules bioactives, permet d'indiqué que cet extrait présente un effet bactéricide vis à vis des souches de références.

Nos résultats ont indiqué que les deux extraits ont un effet sur les bactéries à Gram positif et négatif, toutefois les travaux de **Mundt et al., (2001)** ont indiqué que les extraits des cyanobactéries inhibent la croissance des bactéries à Gram positif uniquement. Aussi des résultat similaire ont été signalé par **Kreitlow et al., (1998)** qui ont rapporté qu'aucun des extraits des cyanobactéries n'a montré une activité vis-à-vis des bactéries à Gram négatif.

Conclusion

Ce travail montre la richesse potentielle des cyanobactéries, les résultats obtenus indiquent que l'inhibition de croissance bactérienne dépend de 2 facteurs, la bactérie utilisée et la quantité. Les résultats de l'activité antibactérienne effectuée dans ce travail sont prometteuses vu que l'extrait aqueux de l'espèce *Microcystis aeruginosa* et *Oscillatoria limosa* a révélé une activité antibactérienne bactéricide sur les 4 souches de référence.

En perspective, il serait très intéressant de mener une étude plus approfondie en étudiant :

- Phytochimie.
- Tirer le maximum d'extraits.
- Activité anti-oxydante.
- Utiliser des souches pathogènes.
- Faire des synergies.

Références bibliographique S

- Azevedo, D. A., Santos, C. Y. M., Aquino Neto, F. R., 2002.** Identification and seasonal variation of atmospheric organic pollutants in Campos dos Goytacazes, Brazil. *Atmos. Environ.* 36: 2383-2395.
- Barry, R. A. M. P., Mckinley, P.E., Bendheim, G. K., Lewis, S. J., Prusiner, S. B., 1985.** Antibodies to the scrapie protein decorate prion rods. *J. Immunol.* 135: 603-613.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., Turck, M., 1966.** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* Apr. 45(4):493–496.
- Bolou, G. E. K., Attioua, B., N'Guessan, A.C., Coulibaly, A., N'Guessan, J.D., Djaman, A. J., 2010.** Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. Sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.* 80:772 – 790.
- Bourrelly, P., 1985.** Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome III : Les algues bleues et rouges. Eugléniens, Péridiniens et Cryptomonadines. Boubée, Paris, 607 P.
- Boyd, M. R., Gustafson, K. R., Mc Mahon, J. B., Shoemaker, R. H., 1997.** Discovery of cyanovirin-N, a novel human immunodeficiency virus-inactivating protein that binds viral surface envelope glycoprotein gp 120: potential applications to microbicide development, *Antimicrob. Agents Chemother.* 41 : 1521-1530.
- Briand, E., Quiblier, C., et Humbert, J. F., 2008.** Etude spatiotemporelle de la dynamique des cyanobactéries dans la retenue de bord les orgues. *Epidior* 06227. P94.
- Briand, J. F., Jacquet, S., Bernard, C., Humbert, J. F., 2003.** Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Vet. Res* 34: 361-377.
- Brient, L., Vésie, C., Bertru, G., 2001.** Evaluation des efflorescences à cyanobactéries dans des eaux de cours d'eau et plans d'eau breton. Université de Rennes 1. pp80.
- Brunberg, A. K., Blomqvist, P., 2002.** Benthic overwintering of *Microcystis* colonies under different environmental conditions. *Journal of Plankton Research.* 24: 1247-1252p.
- Carmichael, W. W., Falconer, I. R., 1993.** Diseases related to freshwater blue-green algal toxins and control measures. In: Falconer I (ed) *Algal toxins in seafood and drinking water.* Academic. Press. London. P: 187.
- Castenhol, R. W., 2001.** Oxygenic photosynthetic bacteria. In *Bergey's manual of systematic bacteriology.* D.R. Boone & R.W. Castenholz (eds). 2nd edn. New York, USA, Springer-Verlag, pp.474.

- Chapry, L., Langlade, M. J., Vicente, N., 2004.** Synthèse du colloque sur les cyanobactéries, Institut Océanographique Paul Ricard (IOPR) Nardo. Marseille. 11p.
- Chorus, I., Bartram, J., 1999.** Toxic Cyanobacteria in Water: a Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management. E & FN Spon: London. 416p.
- Chorus, I., 2001.** Cyanotoxins : Occurrence, causes, conséquences. Berlin, Springer. 357p.
- Codd, G. A., Lindsay, J., Young, F. M., Morrison, L. F., Metcalf, J. S., 2005.** Harmful Cyanobacteria: from mass mortalities to management measures. *In: Harmful Cyanobacteria.* Huisman J. Matthijs H.C.P. & Visser P.M (eds). Dordrecht. The Netherlands. Springer. P: 1-24.
- Ernst, B., Dietz, L., Hoeger, S. J., Dietrich, D. R., 2005.** Recovery of MC-LR in fish liver tissue. *Envir. Toxicolo.* 20 : 449-458.
- Falconer, I. R., 1993.** Mechanism of toxicity of cyclic peptide toxins from blue-green algae. *In: Falconer I (ed).* Algal toxins in seafood and drinking water. Academic Press. London. P: 177-186.
- Falconer, I. R., 1996.** Potentiel impact on human health of toxic Cyanobacteria. *Phycologia* 35 suppl: 6-11.
- Ferron, A., 1984.** Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12^{ème} édition. Edition Crouan et Roques. Paris. 401p.
- Greuter, W. Mc., Neil, J., Burdet, H. M., Demoulin, V., Filguiras, T.S., Nicholson, D.H., Silva, P. C., Skog, J. E., Trehane, P., Turland, N. J., Hawksworth, D. L., 2000.** International code of Botanical.-Regnum Vegetabile, 138:1474.
- Hansen, G., Turquet, J., Quod, J. P., TenHage, L., Lugomela, C., Kyewalyanga, M., Hurbungs, M., Wawiye, P., Ogongo, B., Tunje, S., Rakotoarinjanahary, H., 2001.** Potentially Harmful Microalgae of the Western Indian Ocean. *Manuals and Guides* 41. P: 5, 79.
- Joffin, J. N., Leyral, G., 2006.** Microbiologie technique : Dictionnaire des techniques. 1^{ère} Edition. Bordeaux. 248p.
- Komarek, J., Anagnostidis, K., 1986.** Modern approach to the classification system of *Cyanophytes : Oscillatoriales*, *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, 80 : 327-427.
- Komarek, J., 2006.** Cyanobacterial taxonomy: current problems and prospects for the integration of traditional and molecular approaches.-*Algae*. 21:349-375.
- Kreitlow, S., Mundt, S., Lindequist, U., 1998.** Cyanobacteria, a potential source of new biologically active substances. *Elsevier*, 70 : 61-63.

- Lapage, S. P., Sneath, P. H. A., Lessel, E. F., Skerman, V. B. D., Seeliger, H. P. R., Clark, W.A., 1992.** International code of Nomenclature of Bacteria (1990 revision). American society of Microbiology, Washington D.C.,199.
- Levi, Y., Harvey, M., Cervantés, P., 2006.** Evaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autre activités réactives. Afssa-Afsset. pp.277.
- Loya, S., Reshef, V., Mizrrachi, E., Silberstein, C., Rachamim, Y., Carmeli, S., HIZI, A., 1998.** The inhibition of the reverse transcriptase of HIV-1 by the natural sulfoglycolipids from cyanobacteria: contribution of different moieties to their high potency, J. Nat. Prod. 61 : 891-895.
- Mundt, S., Kreitlow, S., Nowotny, A., Effmert, U., 2001.** Biochemical and pharmacological investigations of selected Cyanobacteria, Int. J. Hyg. Environ. Health. 203. 8 : 327-334.
- Oberholster, P. J., Botha, A. M., Grobbelaar, J. U., 2004.** *Microcystis aeruginosa*: source of toxic microcystins in drinking water. Afr. J. Biotechnol. 3(3), 159- 168.
- Oberhooster, P. J.** *Microcystisaeruginosa*: source of toxic microcystins in drinking water.African Journal Of Biotechnology, 2004, 3, 159-168.
- Paerl, H. W., Fulton, R. S., Moisander, P. H., Dyble, J., 2001.** Harmful freshwater algal blooms, With an emphasis on cyanobacteria. The Scientific world journal 1:76-113.
- Paerl, H. W., Huisman, J., 2008.** Climate. Blooms likeit hot. Science. 320: 57-58.
- Pilly, E., 1975.** Maladies infectieuses. 4^{ème} édition. La Madeleine : Crouan et Roques. France. 584 p.
- Pitois, S., Jackson, M., Wood, B., 2001.**Sources of the eutrophication problems associated with toxic algae: An overview. J.Envir.Health. 64:25-32.
- Prescott, L. M., Harly, J.P., Klein, D. A., 2003.**Microbiologie. 2^e édition française de boeck. Bruxelles, pp 472, 475, 648.
- Sabart, M., 2009.** Variations spatiotemporelles dans la dynamique, la diversité génétique et le potentiel toxique de populations de *Microcystis aeruginosa* (*Cyanobacteria*) dans plusieurs écosystèmes aquatiques de la France. Thèse de doctorat de l'université de Savoie. Mention : Biodiversité, écologie environnement. p 100.
- Satochi, N., Yutaka, I Masaaki, H., 2000.** Myriophyllum spicatum-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae. J. Envir. Health 34: 3026-3032.
- Scheffer, M., Rinaldi, S., Gragnani, A., Mur, L. R., Van Nes, E. H., 1997-**On the dominance of filamentous Cyanobacteria in shallow, turbid lakes. Ecology 78: 272-282.

- Senez, J., 1968.** Microbiologie générale. Edition : Doin. Paris. 592 p.
- Singh, S. B., Barrett, J. F., 2006.** Empirical antibacterial drug discovery foundation in natural products. *Biochem. Pharmacol.*71: 1006-1015.
- Sivonen, K., 1996.** Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia* 35: 12 -24.
- World Health Organization., 1998.** Guidelines for safer ecreational water environments: coastal and freshwaters. P: 283.
- Zurawell, R. W., Chen, H., Burke, J. M., 2005.** Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. *Toxicol. Environ. Health Part B*, 8: 1-37.

Résumés

Résumé

Notre étude a pour but d'évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne ainsi que la concentration minimale inhibitrice et bactéricide de 2 extraits aqueux de cyanobactéries : *Microcystis aeruginosa* et *Oscillatoria limosa* sur 4 souches de référence : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Les résultats obtenus révèlent : La richesse des 2 extraits des cyanobactéries en molécules bioactives, l'extrait *Microcystis aeruginosa* apparait plus actif comparé à l'espèce *Oscillatoria limosa*.

La CMI de l'extrait aqueux de l'espèce *Microcystis aeruginosa* a indiqué une CMI de l'ordre de 100 mg/ml pour toutes les souches de références. Cependant l'extrait aqueux de l'espèce *Oscillatoria limosa* a été de l'ordre de 50 mg/ml pour l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* : 100 mg/ml pour l'espèce *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* et de 150 mg/ml pour l'espèce *Escherichia coli*. La CMB la plus faible de l'extrait aqueux de l'espèce *Microcystis aeruginosa* est notée sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis* (150 mg/ml), pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* la CMB été de l'ordre de 300 mg/ml. Cependant la CMB la plus faible pour l'extrait aqueux de l'espèce *Oscillatoria limosa* est retrouvée sur *Pseudomonas aeruginosa* (150 mg/l). Pour *Staphylococcus aureus* ; *Entérocoques faecalis* et *Escherichia coli* la CMB été de l'ordre de 300 mg/ml.

La comparaison du rapport CMB / CMI des souches des références aux valeurs intrinsèques des molécules bioactives, permet d'indiqué que les 2 extraits présentent un effet bactéricide vis à vis des 4 souches de références.

Mots clés : Activité antibactérienne, souches de référence, CMI, CMB, *Microcystis aeruginosa*, *Oscillatoria limosa*.

Abstract

Our study is devoted to in vitro evaluation of the antibacterial activity as well as the minimal inhibitory (MIC) and bactericidal concentration (MBC) of 2 aqueous extracts of cyanobacteria: *Microcystis aeruginosa* and *Oscillatoria limosa* on 4 reference strains: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

The results obtained reveal: The richness of the 2 extracts of the cyanobacteria in bioactive molecules, the extract *Microcystis aeruginosa* appears more active compared to the species *Oscillatoria limosa*.

The MIC of the aqueous extract of the species *Microcystis aeruginosa* indicated a MIC of the order of 100 mg / ml for all the reference strains. However, the aqueous extract of the species *Oscillatoria limosa* was of the order of 50 mg / ml for the species *Pseudomonas aeruginosa*; 100 mg / ml for the species *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* and 150 mg / ml for the species *Escherichia coli*. The lowest MBC of the aqueous extract of the species *Microcystis aeruginosa* was recorded on *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis* (150 mg / ml), for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The MBC was about 300 mg / ml. However, the lowest MBC for the aqueous extract of the species *Oscillatoria limosa* is found on *Pseudomonas aeruginosa* (150 mg / l). For *Staphylococcus aureus*; *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* the MBC was of the order of 300 mg / ml.

The comparison of the MBC / MIC ratio of the reference strains to the intrinsic values of the bioactive molecules makes it possible to indicate that the 2 extracts have a bactericidal effect to the 4 reference strains.

Key words: Antibacterial activity, reference strains, MIC, MBC, *Microcystis aeruginosa*, *Oscillatoria limosa*

المخلص

تخصص هذه الدراسة لتقييم نشاط مضادات البكتيريا وكذلك تركيز الحد الأدنى المثبط (CMI) و مبيد البكتيريا (CMB) لمستخلصين مائيين من البكتيريا الزرقاء، وتطبق هذه المستخلصات على 4 سلالات مرجعية: الإشريكية القولونية ATCC 25922، الزائفة الزنجارية ATCC 27853 و المكورات العنقودية الذهبية ATCC25923 و المكورات المعوية البرازية. ATCC 29212. لقد أظهرت أن ان البكتيريا الزرقاء غنية بالجزئيات النشطة بيوجيا حيث ان المستخلص *Microcystis aeruginosa* اكثر نشاطا من المستخلص *Oscillatoria limosa*. ولقد أظهرت النتائج ان الحد الأدنى المثبط (CMI) للمستخلص *Microcystis aeruginosa* يؤثر على جميع السلالات بقيمة 100 ملغ/مل، أما بالنسبة للمستخلص *Oscillatoria limosa* فقيمة تركيزه الأدنى المثبط 50 ملغ/ملل بالنسبة ل الزائفة الزنجارية، 100 ملغ/ملل بالنسبة المكورات المعوية البرازية و المكورات العنقودية الذهبية و 150 ملغ/ملل بالنسبة الإشريكية القولونية. أدنى قيمة لنشاط مبيد البكتيريا (CMB) بالنسبة لمستخلص *Microcystis aeruginosa* لوحظت على الزائفة الزنجارية و المكورات المعوية البرازية بقيمة 150 ملغ/ملل، بالنسبة الإشريكية القولونية و المكورات العنقودية الذهبية فقيمة (CMB) هي 300 ملغ/ملل. فيما يتعلق بأدنى قيمة لنشاط مبيد البكتيريا بالنسبة لمستخلص *Oscillatoria limosa* لوحظت على الزائفة الزنجارية بقيمة 150 ملغ/ملل بالنسبة الإشريكية القولونية و المكورات العنقودية الذهبية و المكورات المعوية البرازية فقيمة CMB هي 300 ملغ/ملل. مقارنة النسبة CMB/CMI للسلالات المرجعية مع القيم الجوهرية للجزئيات الحيوية النشطة يشير ان المستخلصين يكون لهما تأثير مبيد للجراثيم ضد السلالات المرجعية الأربعة.

كلمات البحث: النشاط المضاد للبكتيريا، السلالات المرجعية، تركيز الحد الأدنى المثبط (CMI)، مبيد البكتيريا (CMB).

Oscillatoria limosa, Microcystis aeruginosa