

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE MOLECULAIRE PROTEOMICS ET SANTE

THESE Présentée par

M^{me} MEZOUARI Soumia

**EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTORAT 3^{ème} CYCLE**

Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Moléculaire et Protéomics

Thème

**Isolement et caractérisation des microorganismes à intérêt
biotechnologique de la région de Sidi Bel Abbès.**

Soutenu le :

Devant le Jury composé de :

Président :

Mr. BENALI Mohamed (Professeur, Université de Sidi Bel Abbès).

Examineurs :

Mr. BELABID Lakhdar (Professeur, Université de Mascara).

Mr. MEDDAH Boumediène (Professeur, Université de Mascara).

Directeur de thèse :

Mr. ABBOUNI Bouziane (Professeur, Université de Sidi Bel Abbès).

Année universitaire 2016/2017

Remerciements

Même si parfois les mots semblent fades à côté de la profondeur des sentiments, il faut pourtant les concrétiser en remerciements, pour honorer tous ceux qui nous ont aidés à franchir ce pas vers l'avenir.

Je remercie Dieu de m'avoir donné la force et le courage pour achever cette thèse.

*Ce modeste travail est le fruit de quelques années de persévérance où plusieurs personnes m'ont apporté main forte principalement mon encadreur le Professeur **ABBOUNI Bouziane** qui m'a introduit dans le domaine de la microbiologie.*

*Mes remerciements vont également au **Pr. BENALI Mohamed** (Professeur à l'Université de Sidi Bel Abbès) pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

Mes plus vifs remerciements vont aux membres du jury qui ont accepté de lire et juger mon travail à la lumière de leurs compétences notables dans ce domaine.

Mes remerciements s'adressent également à Mme la directrice du laboratoire de l'ADE pour m'avoir donné la chance pour pouvoir réaliser une partie de mon travail dans son laboratoire.

J'adresse à l'ensemble des membres de l'équipe du laboratoire de microbiologie CHU-SBA mes remerciements les plus sincères pour l'aide qu'ils ont pu m'apporter et la convivialité dont ils ont fait preuve, spécialement à Mr Harachi pour son aide.

Je remercie du fond du cœur Mr Djamil (Ingénieur, Laboratoire de biotoxicologie), Mme Haddad (Ingénieure, Laboratoire de microbiologie appliquée), et Mme Mekioui (Ingénieure, Laboratoire de biotechnologie) pour leurs aides et conseils.

Mezouari Soumia

Dédicaces

A mon père qui m'a encouragé depuis mon jeune âge à suivre le chemin de la science et qui m'a soutenu pour poursuivre mes études.

A mon mari Djamel Eddine qui m'a encouragé et m'a soutenu durant la période d'élaboration de cette modeste étude.

A mon beau père et ma belle-mère.

A mes sœurs : Asma, Meriem et Hadjer et mon frère Bouazza.

A mes neveux ; Nazim, Samy et Anes.

A mes nièces ; Meriem et Sara.

A mes oncles : Abdelkader, Abdelkader, Sidi ali, Redouane, Abderahmene et Abdelghani. Et leurs Epouses.

A mes beaux-frères : Wassim, Sofiane et Brahim

A mes belles sœurs : Alia, Kawtar et Imen.

A mes familles : Mezouari, Fekir et Toumiat

A mes amies ; Lila, Ikram, Lobna, Amina, Asma, Wissem, Nadia, Fatima, Razika, Kheira , Mimouna, Wahiba et Wafaa

Résumé

Les cyanobactéries constituent un groupe de bactéries capables de produire une multitude de substances antibactériennes, algicides, antifongiques, antivirales.

L'objectif de ce travail est l'isolement, la purification et l'identification des cyanobactéries de certains écosystèmes aquatiques de la wilaya de Sidi Bel Abbes. L'activité antagoniste des substances bioactives élaborées par les isolats de cyanobactéries est mise en évidence vis-à-vis de certaines souches pathogènes responsables d'infections nosocomiales par l'utilisation des germes témoins de l'activité antagoniste utilisés. Ce sont des bactéries à gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterobacter aerogenes* ATCC 35029 et des bactéries à gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 6896 et *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031, les levures : *Candida albicans* ATCC 20408, et champignons filamenteux : *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aspergillus flavus* ATCC 10124.

A cet effet, quatre solvants organiques sont utilisés pour l'extraction des agents bioactifs responsables d'activité antagonistes, le méthanol, l'éthanol, l'acétone et l'éther diéthylique. Le screening primaire a permis l'isolement de quatre souches appartenant aux Cyanobactéries, avec l'appartenance de 75% des souches isolées à la famille des Oscillatoriaceae.

La mise en évidence de l'activité antagoniste des cyanobactéries isolées vis-à-vis des germes témoins responsables d'infections nosocomiales par la méthode de diffusion des puits a révélé que les extraits des cyanobactéries ont manifesté une activité inhibitrice de croissance des souches testées. L'utilisation des extraits méthanoliques, acétoniques d'*Oscillatoria sp*, l'extrait méthanolique d'*A.spherica* et *lyngbya sp*, et l'extrait acétonique de *Phormidium sp* a manifesté une excellente activité antagoniste vis-à-vis des germes témoins de cette activité. A l'opposé, la souche *E.coli* a présenté une forte résistance par rapport à la totalité des extraits des cyanobactéries isolées.

Par ailleurs, l'étude de l'activité antagoniste des cyanobactéries vis-à-vis des champignons filamenteux : *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aspergillus flavus* ATCC 10124 a révélé que les substances extraites à partir des cultures de *Lyngbya sp* et *Phormidium sp* à l'aide d'éther diéthylique ont manifesté une excellente activité. Par contre, les substances extraites d'*Anabeana spherica* ont manifesté une faible activité antagoniste vis-à-vis de souches fongiques pathogènes. La caractérisation des pigments photosynthétiques fluorescents qui peuvent être responsables de l'activité antagoniste d'*Anabeana spherica*, réalisée par la technique HPLC et

HPLC-DAD a permis l'identification de 9 composés la chlorophylle, α -carotène, β -carotène, la luteine, l'astaxanthine, la violaxanthine, la Zeaxanthine, Neoxanthine et Canthaxanthine.

Mot clés : Cyanobactéries, Activité antagoniste, purification, molécules bioactives, extraits méthanoliques, HPLC.

Abstract

Cyanobacteria are a group of bacteria able of producing a variety of antibacterial substances, algaecides, antifungal and antiviral. The aim of this work is isolation, purification and identification of cyanobacteria from some aquatic ecosystems of wilaya of Sidi Bel Abbes, thereafter evaluation of the antagonistic activity of bioactive substance of cyanobacteria against pathogenic strains responsible for nosocomials infections, 10 test strains are used such as *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031 and Gram-positive strains such as *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterobacter aerogenes* ATCC 35029. The used yeast was *Candida albicans* ATCC 20408 and the investigated filamentous fungi's were *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aspergillus flavus* ATCC 10124.

For this purpose, four organic solvents are used for the extraction of bioactive agents responsible for antagonistic activity methanol, ethanol, acetone, diethyl ether, the antagonistic activity of cyanobacteria is evaluated buy the using agar well diffusion method, the obtaine result showed that the extracts of the cyanobacteria showed growth inhibitory activity against the strains tested. The used of methanol and acetone extract of *Oscillatoria sp*, methanol extract of *A.spherica* and *lyngbya sp*, and aceton extract of *Phormidium sp* yielded the highest antagonistic activity against pathogenic strains. In contrast, *E.coli* has manifested an important resistance against crude extract of cyanobacteria.

For antifungal activity the result revealed that the substances extracted from the cultures of *Lyngbya sp* and *Phormidium sp* using diethyl ether showed excellent activity. Furthermore, substances extracted from *Anabeana spherica* showed low antagonist activity against pathogenic fungal strains. The characterization of bioactive compounds responsible for antibacterial and antifungal activity is assased buy HPLC and HPLC-DAD, the results obtained allowed the identification of 9 compounds: chlorophylle, α -carotene, β -carotene, lutein, astaxanthin, violaxanthin, Zeaxanythin, Neoxanthin and Canthaxanthin.

Keywords:

Cyanobacteria, antagonistic activity, purification, methanolic extract, bioactive molecules, HPLC.

ملخص

البكتيريا الزرقاء هي مجموعة من البكتيريا القادرة على إنتاج مجموعة متنوعة من مواد مضادة للجراثيم، مبيد طحالب، فطريات، مضاد للفيروسات. الهدف من هذا العمل هو عزل وتنقية وتحديد البكتيريا الزرقاء من بعض النظم الإيكولوجية المائية في ولاية سيدي بلعباس. بعد ذلك دراسة تأثيرات المواد النشطة بيولوجيا التي تنتجها 4 سلالات من البكتيريا الزرقاء التي تم دراستها من بعض النظم الإيكولوجية المائية في ولاية سيدي بلعباس ضد السلالات المسببة للأمراض المسؤولة عن عدوى المستشفيات، تم اختبار 10 كائنات منها 7 البكتيريا سلالات إيجابية الغرام. *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterobacter aerogenes* ATCC 35029 *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 6896 et *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031, *Candida albicans* الخيمرة على الخيمرة ATCC 20408, *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aspergillus flavus* ATCC 10124. تحقيقا لهذه الغاية، تستخدم أربعة مذيبات لاستخراج الجزيئات النشطة بيولوجيا ، الميثانول والايثانول والأسيتون واثير.

أظهرت نتائج تحديد السلالات المدروسة من البكتيريا الزرقاء الاربعة أنهم ينتمون إلى عائلتين, 75% من العزلات تنتمي إلى عائلة Oscillatoriaecia

تم دراسة نشاط الخصم بطريقة نشرها بأبار. أظهرت النتائج أن مستخلصات البكتيريا الزرقاء لها تأثير كابت على نمو الاختبارات السلالات المسببة للأمراض. وفقا للفحص الجزيئات الحيوية النشطة المسؤولة عن النشاط المضاد للبكتيريا، تبين أن مستخلص الميثانول والأسيتون ل *Oscillatoria sp* مستخلص الأسيتون ل *Phormidium sp* ومستخلص الميثانول ل *A.spherica* و *lyngbya sp* أظهرت النشاط المثبطة ممتاز ضد البكتيريا المسببة للأمراض . وعلاوة على ذلك، أظهرت *Escherichia coli* مقاومة قوية مقارنة مع من مستخلص البكتيريا الزرقاء معزولة. وفيما يتعلق النشاط فطريات، فقد وجد أن مستخلص ايثر ل *lyngbya sp* و *Phormidium sp* هو أفضل مذيب لاستخراج الجزيئات الحيوية النشطة المسؤولة عن نشاط مضاد فطريات وعلاوة على ذلك يرد أي نشاط المثبطة ل ضد *A.spherica* السلالات الفطرية المسببة للأمراض. تحديد المواد النشطة بيولوجيا المسؤولة عن النشاط المضاد للبكتيريا و الفطريات تم بتقنية HPLC, أظهرت النتائج وجود 9 مواد لنشطة بيولوجيا- α : Neoxanthine Zeaxanthine, violaxanthine, astaxanthine: caroténe, β -caroténe, chlorophylle, luteine, Canthaxanthine.

الكلمات مفتاحية :

البكتيريا الزرقاء , عزل , السلالات الفطرية , الجزيئات الحيوية , الميثانول



“**Liste des abréviations**”

Liste des abréviations

Liste des abréviations

°N	Degré Nord
CE	Conductivité électrique
Do	Densité optique
IU	Unité Internationale
HCl	Acide chlorhydrique
NaOH	Hydroxyde de sodium
CO ₂	Dioxyde de carbone
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HgCl ₂	Chlorure de mercure
NaNO ₃	Nitrate de sodium
K ₂ HPO ₄	Hydrogénophosphate de potassium
MgSO ₄	Sulfate de magnésium
CaCl ₂	Chlorure de calcium
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic
Na ₂ CO ₃	Carbonate de sodium
H ₃ BO ₃	Acide borique
MnCl ₂	Chlorure de manganèse
ZnSO ₄	Sulfate de zinc
Na ₂ MoO ₄	Molybdate de sodium
CuSO ₄	Sulfate de cuivre
Co(NO ₃) ₂	Nitrate de cobalt(II)
Fe ₂ SO ₄	Sulfate de trivalents fer
Fe(OH) ₃	Hydroxyde de fer(III)
MnCl ₂	Chlorure de magnésium
PDA	Potato dextrose agar
NO ₃	Nitrate
NO ₂	Nitrite
NH ₄	Ammonium
DMSO	Diméthylsulfoxyde

Liste des abréviations

HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
SMB	Sidi M'Hamed Benali
ISO	Organisation internationale de normalisation
PVC	Polychlorure de vinyle
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>S. typhimurium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>P. vulgaris</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. aerogenes</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>A. spherica</i>	<i>Anabeana spherica</i>



“ Liste des tableaux ”

Liste des tableaux

Tableau 1 : Présentation des valeurs limites des paramètres physico-chimiques des eaux de lac	03
Tableau 2 : Correspondance des deux systèmes de classification des cyanobactéries.....	13
Tableau 3 : Détermination des composés bioactifs ou « cytotoxine », extraits de cyanobactéries.....	21
Tableau 4 : Etude comparative des analyses physico-chimiques des échantillons d'eaux douces, prélevées à partir du lac SMB et du barrage Sarno.....	47
Tableau 5 : Présentation et identification des espèces appartenant à la famille de cyanobactéries, isolées à partir du lac SMB et du barrage Sarno.....	49
Tableau 6 : L'étude de l'activité antibactérienne de surnageant des cyanobactéries vis-à-vis de certaines souches pathogènes par mesure du diamètre de la zone d'inhibition (mm).....	54
Tableau 7 : L'étude de l'activité antifongique de surnageant des cyanobactéries par mesure du diamètre de la zone d'inhibition (mm).....	55
Tableau 8 : L'étude de l'activité antibactérienne des extraits de cyanobactéries par mesure du diamètre de la zone d'inhibition (mm).....	56
Tableau 9 : L'étude de l'activité antifongique des extraits de cyanobactéries par mesure du diamètre de la zone d'inhibition (mm)	58
Tableau 10 : Détermination du temps de rétention et la concentration de la chlorophylle d' <i>Anabeana spherica</i> , isolée de l'eau de lac de SMB.....	69
Tableau 11 : Exploration du temps de rétention et la détermination de la concentration des différents pigments de l'extrait d' <i>Anabeana spherica</i> , isolée de l'eau du lac SMB.....	70



“**Liste des figures**”

Liste des figures

Figure 1 : Présentation du cycle de l'eau dans la nature.....	02
Figure 2 : Présentation schématique d'une macro-algue brune de type fucale.....	04
Figure 3 : Observation microscopique de quelques micro-algues appartenant à la famille des chlorophycées et cyanophycées.....	05
Figure 4 : Classification des bactéries photosynthétiques.....	06
Figure 5 : Présentation de l'organisation morphologique des cyanobactéries.....	08
Figure 6 : Structure cytologique d'une cellule de cyanobactérie.....	09
Figure 7 : Illustration de la photosynthèse oxygénique.....	11
Figure 8 : Présentation de la succession saisonnière des différents types d'algues.....	14
Figure 9 : Formation de blooms à la surface de lac de Bécancour, Saint Wenceslas, Québec.....	15
Figure 10 : Prédominance des cyanobactéries d'un lac eutrophe.....	17
Figure 11 : Récapitulatif des cyanobactéries fréquemment rencontrés	22
Figure 12 : Image satellite du barrage Sarno et du lac de Sidi Mohamed Benali.....	29
Figure 13 : Présentation de la station d'échantillonnage de l'eau du lac SMB (A) et du barrage Sarno (B).....	30
Figure 14 : Mesure de la profondeur de la zone photique du lac SMB.....	32
Figure 15 : Présentation d'un incubateur de cyanobactéries, isolées à partir des eaux douces.....	35
Figure 16 : Isolement des cyanobactéries à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens.....	36
Figure 17 : Méthode d'isolement des cyanobactéries à partir de l'eau douce du lac SMB et du barrage Sarno.....	37
Figure 18 : Les étapes pour la récolte de la biomasse des cyanobactéries séchées.....	41
Figure 19 : Les étapes de la récupération des extraits de cyanobactéries, isolées de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens.....	42

Liste des figures

Figure 20 : Présentation de l'appareil d'HPLC, équipé avec un détecteur à barrettes de type diodes (Hewlett Packard, série 1500).....	45
Figure 21 : Présentation de l'appareil d'HPLC (Shimadzu -20A).....	46
Figure 22 : Aspect macroscopique des cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens.....	48
Figure 23 : Observation microscopique d'Oscillatoria sp, isolée du barrage Sarno, inoculée sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens (Gx100).....	49
Figure 24 : Observation microscopique de Lyngbya sp, isolée du lac SMB, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25°C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens (Gx100).....	50
Figure 25 : Observation microscopique de Phormidium sp, isolée du lac SMB, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens (Gx100).....	51
Figure 26 : Observation microscopique d>Anabeana spherica, isolée du lac SMB, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens (Gx100).....	52
Figure 27 : La culture des cyanobactéries, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno, inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens.....	53
Figure 28 : Prévalence de l'activité antimicrobienne du surnageant des cyanobactéries, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens.....	55
Figure 29 : Prévalence de l'activité antibactérienne des substances extraites des cyanobactéries.....	59
Figure 30 : L'étude de l'activité antibactérienne des substances extraites des cyanobactéries, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches pathogènes.....	60

Liste des figures

- Figure 31** : L'étude de l'activité antibactérienne des extraits d'*Oscillatoria* sp, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches pathogènes..... **61**
- Figure 32** : L'étude de l'activité antifongique des extraits d'*Oscillatoria* sp, isolées à partir de l'eau du lac SMB et barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes..... **62**
- Figure 33** : L'étude de l'activité antibactérienne extraits de *Lyngbya* sp, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes..... **63**
- Figure 34** : L'étude de l'activité antifongique extraits de *Lyngbya* sp, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes..... **64**
- Figure 35** : L'étude de l'activité antibactérienne des extraits de *Phormidium* sp, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes..... **65**
- Figure 36** : L'étude de l'activité antifongique des extraits de *Phormidium* sp, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes..... **66**
- Figure 37** : L'étude de l'activité antibactérienne des extraits d'*Anabeana spherica*, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes..... **67**

Liste des figures

- Figure 38** : L'étude de l'activité antifongique des extraits d'*Anabeana spherica*, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes..... **68**
- Figure 39** : Caractérisation des pigments de la chlorophylle extraites à partir d'*Anabeana spherica*, isolée de l'eau du lac SMB par la méthode HPLC-DAD **69**
- Figure 40** : Caractérisation des pigments fluorescents xanthophylles extraites à partir d'*Anabeana spherica*, isolée à partir de l'eau du lac SMB par l'HPLC..... **70**

The page features several decorative red lines and shapes. A large, thin red arc curves across the top of the page. Below it, the text 'Table des matières' is centered. At the bottom, there are two overlapping, teardrop-shaped red outlines that resemble stylized leaves or petals.

Table des matières

Table des matières

Introduction	01
---------------------------	-----------

Chapitre I : Rappel bibliographique

1. Les eaux douces.....	02
1.1. Définition de l'eau.....	02
1.2. Les eaux douces.....	02
1.2.1. Les eaux de lacs.....	02
1.2.2. Les barrages.....	03
2. Généralités sur les algues.....	03
2.1 Définition des algues.....	03
2.2. Structure des algues.....	04
2.2.1. Les macro-algues.....	04
2.2.2. Les micro-algues.....	04
2.3. Les groupes des micro-algues.....	05
2.3.1. Les chlorophycées (algues vertes)	05
2.3.2. Les rhodophycées (algues rouges)	05
2.3.3. Les phéophycées (algues brunes)	05
2.3.4. Les cyanophycées (algues bleu-vert)	06
3. Généralités sur les cyanobactéries.....	06
3.1. Apparition.....	06
3.2. Définition des cyanobactéries.....	06
3.3. Diversité morphologique.....	07
3.4. Organisation cellulaire.....	09
3.4.1. Structure cytologique.....	09
3.4.2. Types cellulaires.....	10
3.5. La multiplication.....	10
3.6. Métabolisme des cyanobactéries.....	10
3.6.1. La photosynthèse.....	10
3.6.2. Mode nutritionnel.....	11
3.7. Position taxonomique des cyanobactéries	12
3.8. Habitat.....	13
3.9. Ecologie des cyanobactéries.....	14
3.9.1. Cycle de développement des cyanobactéries.....	14
3.9.2. La prolifération massive des cyanobactéries « bloom ».....	14
3.9.3. Conditions de développement des cyanobactéries.....	15
3.9.4. Phénomène d'eutrophisation et prédominance des cyanobactéries.....	16
3.9.5. Effets indésirables de la prolifération des cyanobactéries.....	17

4. Les cyanobactéries, des productrices de toxines.....	17
4.1. Généralités.....	17
4.2. Types de cyanotoxines.....	18
4.2.1. Les cytotoxines.....	18
4.2.2. Les biotoxines.....	19
4.2.2.1. Les hépatotoxines.....	20
4.2.2.2. Les neurotoxines.....	20
4.2.2.3. Les dermatotoxines.....	20
4.3. Description de quelques genres de cyanobactéries	20
5. Généralités sur les microorganismes.....	22
5.1. Les microorganismes pathogènes	22
5.2. Quelques souches pathogènes	22
5.2.1. <i>Escherichia coli</i>	22
5.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	23
5.2.3. <i>Proteus vulgaris</i>	23
5.2.4. <i>Enterobacter aerogenes</i>	24
5.2.5. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	24
5.2.6. <i>Salmonella typhimurium</i>	25
5.2.7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
5.2.8. <i>Candida albicans</i>	26
5.2.9. <i>Aspergillus Niger</i>	26
5.2.10. <i>Aspergillus flavus</i>	27

Chapitre II : Matériels et Méthodes

1. Présentation de la Zone d'étude.....	28
1.1. Lac Sidi Mohamed Ben Ali.....	28
1.2. Barrage Sarno.....	28
2. Echantillonnage.....	30
2.1. Techniques de prélèvement.....	31
2.1.1. L'isolement des cyanobactéries.....	31
2.1.2. Prélèvement pour les analyses physico-chimiques	31
3. Mesure des paramètres physico-chimiques.....	31
3.1. La température.....	31
3.2. La conductivité.....	31
3.3. Le PH.....	32
3.4. La zone euphotique.....	32
4. Transport et conservation des prélèvements.....	33
5. Dosage des éléments nutritifs.....	33
5.1. Dosage des nitrites (NO ₂).....	33
5.2. Dosage des nitrates (NO ₃).....	33
5.3. Dosage d'azote ammoniacal (NH ₄).....	34

6. Fabrication d'un incubateur de culture des cyanobactéries	34
7. Isolement et purification des cyanobactéries	35
7.1 Préparation du milieu de culture.....	35
7.2. Isolement des cyanobactéries.....	36
7.2.1. Isolement des cyanobactéries par la méthode de filtration sous vide.....	36
7.2.2. Isolement des cyanobactéries par la méthode d'inondation.....	36
8. Identification des cyanobactéries.....	38
8.1. Examen macroscopique.....	38
8.2. Examen microscopique.....	38
8.2.1. Examen microscopique à l'état frais.....	38
8.2.2. Coloration de Gram et l'observation microscopique	38
9. Repiquage et purification.....	38
10. Préparation de la culture des souches de cyanobactéries sur milieu liquide	39
11. Test de l'activité antimicrobienne.....	39
11.1. Extraction des substances intracellulaires et extracellulaires	39
11.2. Préparation des prés-cultures des souches pathogènes	40
11.3. Etude de l'activité antagoniste des cyanobactéries isolées du lac de SMB et barrage Sarno.....	43
12. Caractérisation des pigments photosynthétiques produites chez une souche de cyanobactérie isolée, sélectionnée antagoniste.....	43
12.1. Recherche des pigments fluorescents.....	44
12.1.1. Recherche de la chlorophylle.....	44
12.1.2. Recherche des pigments solubles organique.....	45

Chapitre III : Résultats

1. Caractéristiques physico chimiques des échantillons prélevés.....	47
2. Identification des cyanobactéries.....	48
2.1. Identification macroscopique des espèces de cyanobactéries.....	48
2.2. Identification microscopique des espèces de cyanobactéries.....	48
3. L'activité antimicrobienne des substances intracellulaires et extracellulaires des Cyanobactéries.....	53
3.1. L'activité antimicrobienne des substances extracellulaires des cyanobactéries.....	53
3.1.1. L'activité antibactérienne des surnageants des cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno.....	53
3.1.2. L'activité antifongique des surnageants des cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno.....	54
3.2. L'activité antimicrobienne des substances intracellulaires élaborées par les Cyanobactéries.....	56

3.2.1. L'activité antibactérienne des extraits des cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno.....	56
3.2.2. L'activité antifongique des extraits des cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno.....	57
3.3. Prévalence de l'activité des substances bioactives des cyanobactéries	59
3.4. L'étude de l'activité antimicrobienne des substances extraites des cyanobactéries...	59
3.5. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits d' <i>Oscillatoria sp.</i>	60
3.6. L'étude de l'activité antifongique des extraits d' <i>Oscillatoria sp.</i>	61
3.7. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits de <i>Lyngbya sp.</i>	62
3.8. L'étude de l'activité antifongique des extraits de <i>Lyngbya sp.</i>	63
3.9. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits de <i>Phormidium sp.</i>	64
3.10. L'étude de l'activité antifongique des extraits de <i>Phormidium sp.</i>	65
3.11. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits d' <i>Anabeana spherica.</i>	66
3.12. L'étude de l'activité antifongique des extraits d' <i>Anabeana spherica.</i>	67
4. Caractérisation des pigments photosynthétiques de la souche de cyanobactérie, isolée sélectionnée antagoniste.....	68

Chapitre IV : Discussion

Discussion.....	71
Conclusion et perspectives.....	79
Références bibliographiques	81
Annexes	94



■ ■ Introduction ■ ■

Introduction

L'eau constitue une ressource fondamentale dans la vie et socle du développement humain, hissée en Algérie au rang de priorité nationale depuis plus d'une décennie.

L'insuffisance de cette source est un problème majeur, auquel l'homme doit tenir compte dans le développement des méthodes de recherches, pour l'exploitation des eaux de surface (Barroudi *et al.*, 2002).

L'activité industrielle entraîne depuis plusieurs années le rejet du phosphore et de l'azote dans l'environnement provoquant le développement des cyanobactéries (Silvano *et al.*, 2005).

La prolifération des cyanobactéries est très fréquente dans les eaux douces telles que les eaux de lacs et de barrages.

Les cyanobactéries sont capables de se proliférer rapidement et former des efflorescences ou blooms généralement toxiques (Saoudi *et al.*, 2008).

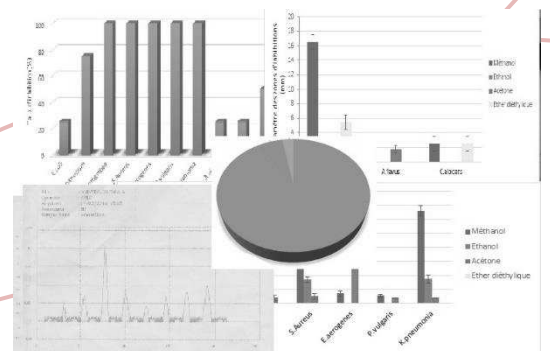
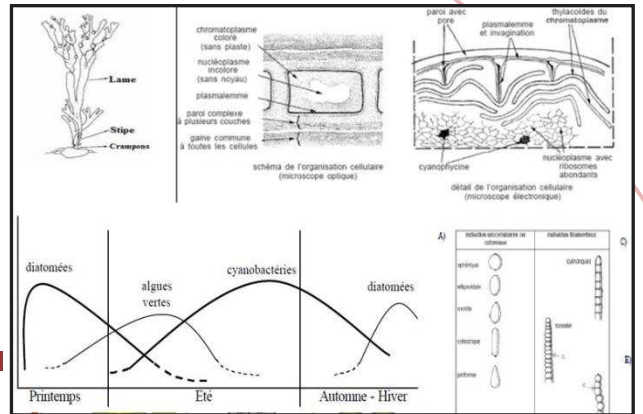
L'apparition du phénomène d'eutrophisation a permis de mettre en lumière des dysfonctionnements liés principalement à certaines activités telles que l'agriculture, l'assainissement et l'industrie (Monestier *et al.*, 2006). L'augmentation des infections nosocomiales a été constatée depuis quelques années lors de l'utilisation de certaines techniques de surveillance des patients telles que les cathéters urinaires, l'implantation des prothèses, les perfusions (Amazian *et al.*, 2010). Les cyanobactéries sont caractérisées par la production d'une grande variété de molécules, possédant des propriétés toxiques à savoir l'hépatotoxicité, la neurotoxicité, la dermatotoxicité et les syndromes gastro-intestinaux (Stewart *et al.*, 2006). A l'opposé, de nombreux travaux réalisés ont montré que les cyanobactéries constituent une nouvelle source de production des substances antibactériennes, anti-algales, antifongiques et même antivirales, anti-inflammatoires et anti-cancéreuses (Oufdou *et al.*, 2009).

L'étude de l'activité antibactérienne des cyanobactéries isolées à partir des eaux du lac Sidi Mohamed Benali et du barrage Sarno constitue une nouvelle approche de recherche.

L'objectif de ce présent travail est l'identification et la purification des cyanobactéries, isolées à partir des eaux douces du lac Sidi Mohamed Benali et du barrage Sarno. L'étude de leur activité antibactérienne et antifongique vis-à-vis de certaines souches pathogènes responsables d'infections nosocomiales et la caractérisation des pigments photosynthétiques produites chez la souche sélectionnée antagoniste par la technique d'HPLC.

Chapitre I

Rappel Bibliographique



1. Les eaux douces

1.1. Définition de l'eau

L'eau ou oxyde d'hydrogène est un liquide incolore, composé chimique essentiel, ubiquitaire, présent sur la terre et se trouve en général dans son état liquide (Quemerai *et al.*, 2005). Une étendue d'eau peut être un océan, une mer, un lac, un étang, un fleuve, une rivière, un ruisseau, un canal...etc., et la circulation de l'eau au sein des différents compartiments terrestres est décrite par son cycle biogéochimique (**Figure 1**).

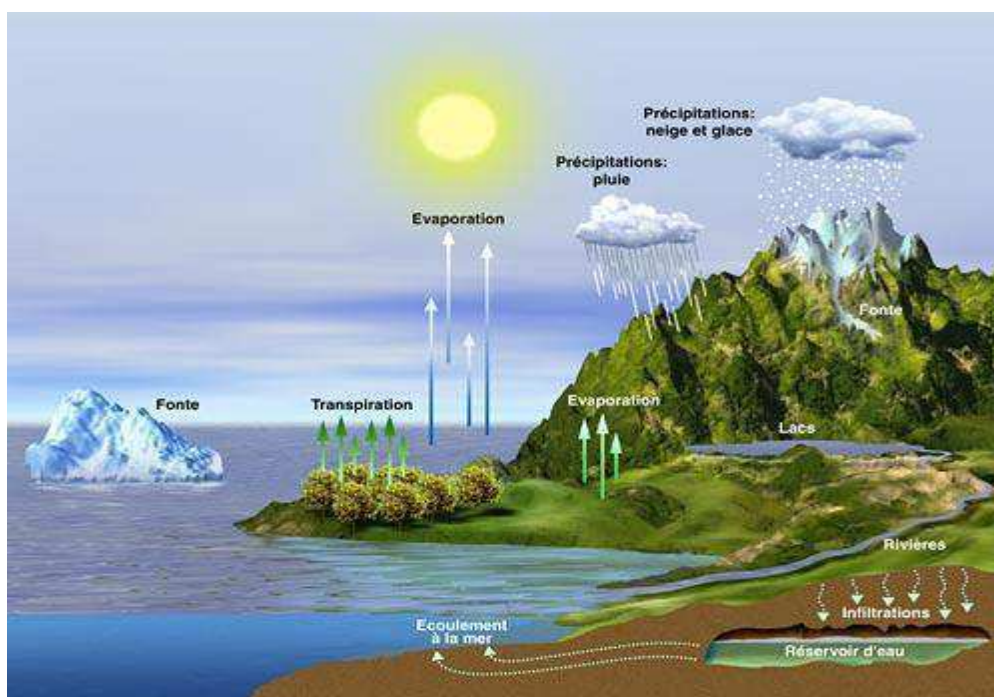


Figure 1 : Présentation du cycle de l'eau dans la nature (Aubourg *et al.*, 2000).

1.2. Les eaux douces

Les eaux douces représentent environ 3 % des eaux de la planète, rencontrées dans les glaciers, les tourbières, les rivières etc. L'eau douce est une ressource naturelle, dont la partie utilisable par l'homme est limitée, ce qui signifie l'importance de sa gestion comme un capital (ONU, 2000).

1.2.1. Les eaux de lacs

Les lacs se forment lorsque les eaux douces coulent le long des pentes, rencontrent des obstacles et les contre-pentes les empêchent de poursuivre leur parcours. Les eaux envahissent la dépression créée permettant la formation des étendues d'eaux (ONU, 2000).

Rappel Bibliographique

Tableau 1 : Présentation des valeurs limites des paramètres physico-chimiques des eaux de lac (Rodier *et al.*, 2009).

Paramètres	Unités	Normes
Température	°C	25
pH	-	6.5 -8,5
Conductivité	µs/cm	1000
Salinité	Mg/L NaCl	/
Nitrites	Mg/L NO ₂	0.2
Nitrates	Mg/L NO ₃	50
Magnésium	Mg/L Mg	50
Oxygène dissous	Mg/L O ₂	> 30

1.2.2. Les barrages

Un barrage est un ouvrage construit pour les retenues des eaux et constitue un grand réservoir d'eau pour l'homme.

Le barrage est utilisé pour les fins suivantes :

- Le contrôle du débit d'un fleuve ou d'une rivière.
- L'irrigation des cultures.
- L'alimentation de la zone en eau potable.
- L'élevage de poissons (la pisciculture).
- La création de lacs artificiels ou de réservoirs.
- La maîtrise des crues pour la prévention des catastrophes naturelles (inondations).
- L'utilisation touristique et sportive (Barroudi *et al.*, 2002).

L'appréciation de la qualité des eaux de surface est basée sur la mesure des paramètres physico-chimiques et la présence ou l'absence de certains organismes ou micro-organismes.

2. Généralités sur les algues

2.1. Définition des algues

Les algues sont des organismes photosynthétiques possédant la chlorophylle *a*. Elles peuplent les lieux humides et de nombreux milieux terrestres, dépourvues de tige, de racine, de feuille ou de fleur, leur appareil végétatif relativement simple est appelé « thalle » (Guillaume *et al.*, 2010). Elles peuvent être libres ou fixées sur un support, leur taille varie de moins d'un micromètre comme l'algue *Prochlorococcus* (0.5 µm) à plusieurs dizaines de mètres pour les macrocystis (60m) (Floc'h *et al.*, 2010). Avec un nombre d'espèces recensées qui dépasse

136207, la détermination du nombre des espèces est difficile vu leur diversité inconnue et leur recensement et classification (Guiry *et al.*, 2014).

2.2. Structure des algues

2.2.1. Les macro-algues

Les macro-algues constituées à leurs bases de crampons, qui leur permettent de se fixer sur un support. 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 *et al.*, 2011).

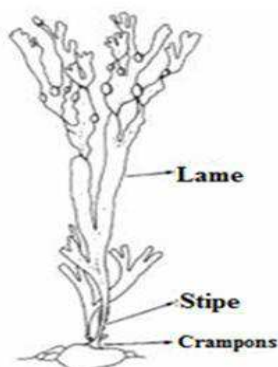


Figure 2 : Présentation schématique d'une macro-algue brune de type fucale (Person *et al.*, 2011).

2.2.2. Les micro-algues

Les micro-algues, encore appelées algues microscopiques ou plus spécifiquement phytoplancton, ont généralement une taille de l'ordre du micron. Elles sont donc invisibles à l'œil nu. Dans le milieu aquatique, leur présence est perçue lorsqu'elles prolifèrent au point de colorer la surface des eaux (Diadie *et al.*, 2009).

La cellule unique des micro-algues unicellulaire est capable d'assurer toutes les fonctions. La plupart d'entre elles sont adaptées à la flottaison. De nombreuses espèces possèdent un ou plusieurs flagelles mobiles qui leur confèrent une véritable aptitude à la nage (Hortense *et al.*, 2011).

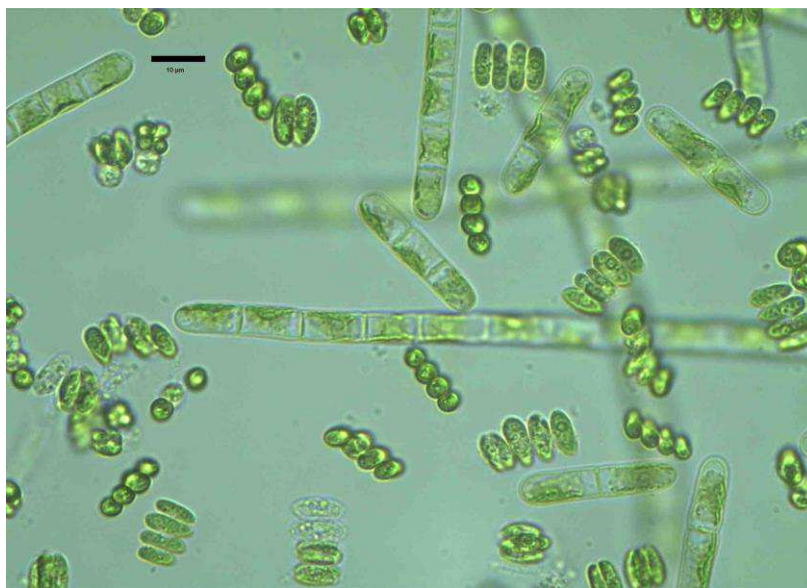


Figure 3 : Observation microscopique de quelques micro-algues appartenant à la famille des chlorophycées et cyanophycées (Mohamed *et al.*, 2012).

2.3. Les groupes des micro-algues

Selon leurs pigmentations, les algues sont divisées en quatre groupes : les chlorophycées, les rhodophycées, les phéophycées et les cyanophycées (Mohamed *et al.*, 2012).

2.3.1. Les chlorophycées (algues vertes)

Les algues vertes sont des organismes eucaryotes photosynthétiques caractérisés par la présence de chloroplastes contenant deux enveloppes membranaires, des thylakoïdes empilés (grana) et des chlorophylles a et b. Toutes les algues vertes produisent de l'amidon comme réserve principale de polysaccharides, s'accumulant dans les plastides (Proschold *et al.*, 2007).

2.3.2. Les rhodophycées (algues rouges)

L'association de la phycoérythrine à d'autres pigments chlorophylliens est à l'origine de la coloration rosâtre des plastes de ces algues. Les rhodophycées sont des organismes pluricellulaires d'origine marine divisés en deux grands groupes, en fonction de leurs cycles de reproduction : les Blangiophycées et les Floridéophycées (Guillaume *et al.*, 2010).

2.3.3. Les phéophycées (algues brunes)

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 *et al.*, 2010).

2.3.4. Les cyanophycées (algues bleu-vert)

Les cyanophycées ou algues bleues-vertes sont des algues procaryotes à Gram négatif, très répandues dépourvues de noyau (Dumont *et al.*, 2006). Elles possèdent des pigments bleus (phycocyanines) et rouges (phycoérythrine) qui masquent la chlorophylle *a*. En dépit de leur ancien nom d'algues bleues, elles sont rarement bleues mais plus souvent rouges, vertes avec des reflets bleutés, violets, bruns, jaunes ou orangés. La plupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse voir gluante en raison des mucilages qu'elles sécrètent (Ainane *et al.*, 2011).

3. Généralités sur les cyanobactéries

3.1. Apparition

Les cyanobactéries apparues depuis environ 3,5 milliards d'années durant le précambrien, forment avec les bactéries, les êtres vivants les plus anciens connus sur la terre. Il en existe au moins 2000 espèces réparties dans plus de 150 genres (Duy *et al.*, 2000).

Elles représentent une sous-classe bactérienne majeure par leur diversité morphologique et physiologique et le rôle joué par la création d'une atmosphère aérobie indispensable au développement de la vie (Sguera *et al.*, 2008) (**Figure 4**). Les cyanobactéries jouent un rôle dans l'équilibre des proportions entre le gaz carbonique et l'oxygène.

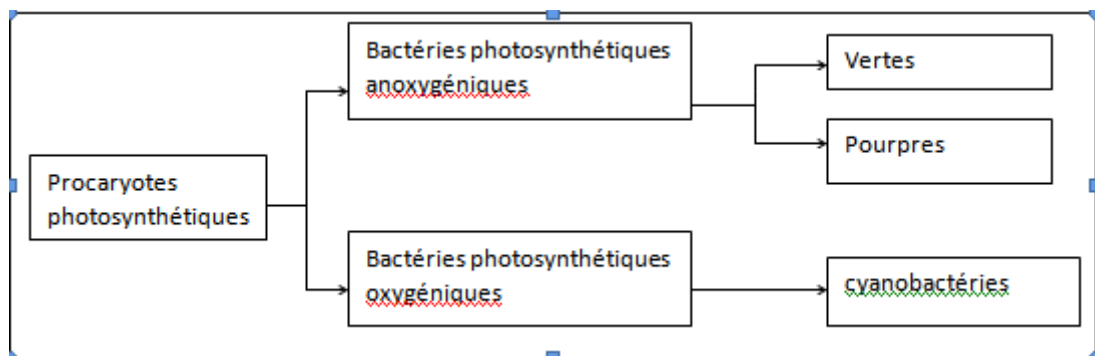


Figure 4 : Classification des bactéries photosynthétiques (Prescott *et al.*, 2003).

3.2. Définition des cyanobactéries

Les cyanobactéries désignent les microorganismes procaryotes avec une pigmentation de couleur bleu-vert et présentent des propriétés communes à la fois aux algues et /ou aux bactéries. Les cyanobactéries possèdent la chlorophylle *a* et deux photosystèmes. Elles utilisent l'eau comme donneur d'électron, réalisent une synthèse photo-oxygénique et renferment aussi des phycobiliprotéines (Silvano *et al.*, 2005).

Rappel Bibliographique

Les caractéristiques communes avec les bactéries sont l'absence de membrane nucléaire et plastidiale, de mitochondrie, de réticulum endoplasmique, d'yciosome et la présence de la paroi cellulaire à coloration de Gram négative avec de la muréine (Fay *et al.*, 1987).

3.3. Diversité morphologique

La longueur des cellules varie entre 0.6 et 10 μm , le diamètre moyen des cellules est compris entre celui des bactéries et celui des algues. La longueur des cellules des espèces filamenteuses est plus courte ou plus longue que leur largeur (Bernard *et al.*, 2003).

L'organisation des thalles de cyanobactéries est caractérisée par une grande variété. Les formes les plus simples sont unicellulaires, sphériques, ellipsoïdales, cylindriques, ovoïdes ou piriformes, nues ou entourées d'une gaine mucilagineuse homogène ou stratifiée (**Figure 5 Planche (A)**). Plus complexes sont les colonies, agrégats de cellules (aux formes identiques à celles décrites précédemment) au nombre généralement variable, non jointives, enrobées dans un mucilage commun (Dumont *et al.*, 2006).

La forme des colonies est très diversifiée, allant de la structure monostomatique (colonie plane à une seule couche de cellules) à la structure amorphe (nombreuses cellules dans un mucilage commun sans contour défini), en passant par les formes cubiques sphériques, linéaires (**Figure 5 planche (B)**) (Dumont *et al.*, 2006).

Les thalles élaborés sont organisés en filaments unisériés (une seule série de cellules jointives) ou plurisériés (plusieurs séries de cellules jointives), non ramifiés ou à vraies ou fausses ramifications, sans gaine (trichome) ou avec gaine mucilagineuse (filament) homogène ou stratifiée (Coute *et al.*, 2001).

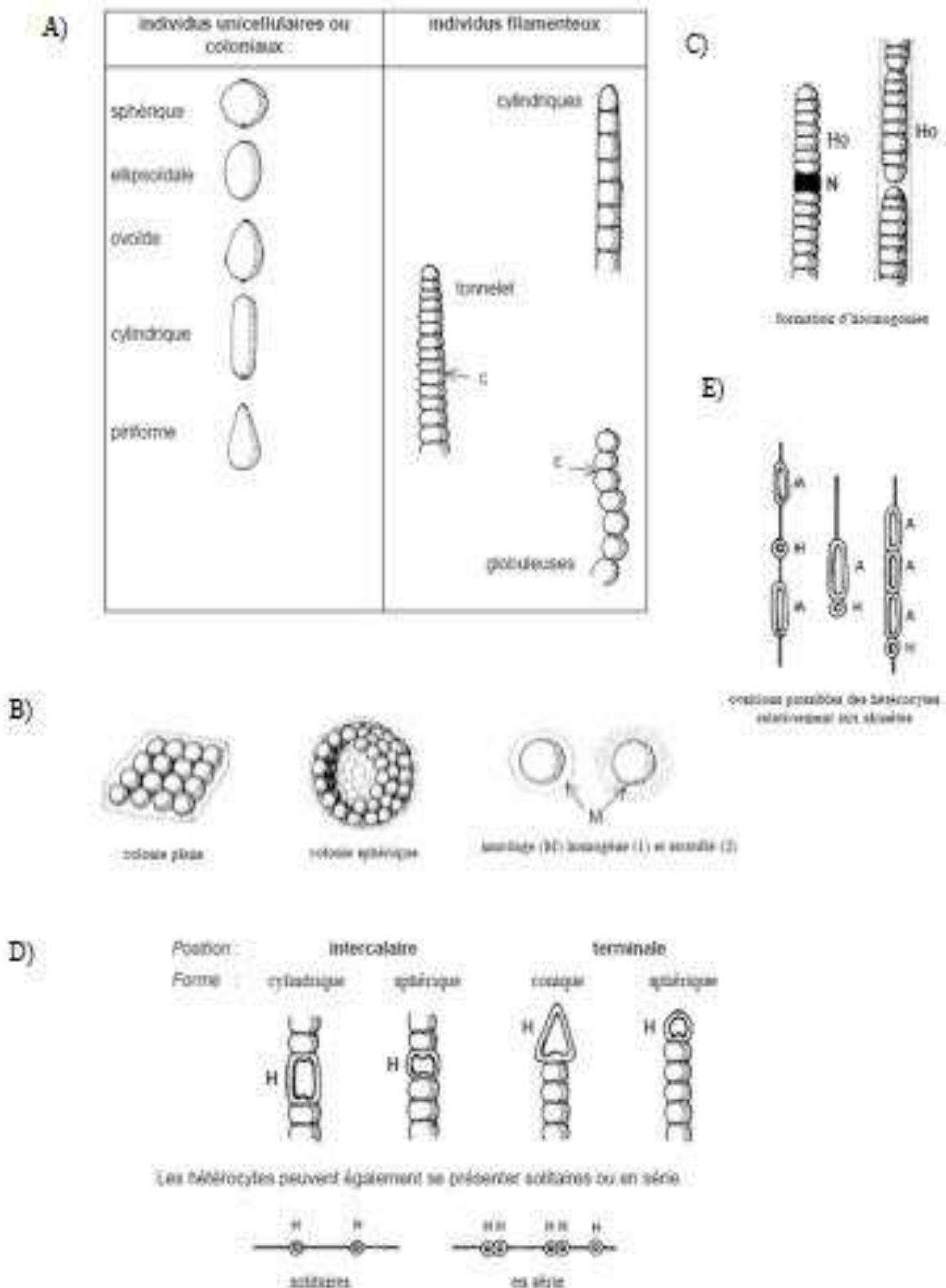


Figure 5 : Présentation de l'organisation morphologique des cyanobactéries (Leitão *et al.*, 2005).

3.4. Organisation cellulaire

3.4.1. Structure cytologique

Les cyanobactéries ont une coloration homogène. L'examen microscopique permet de distinguer une zone périphérique colorée ou chromatoplasme et une partie centrale incolore, centroplasme (ou corps central ou nucléoplasme) (Bourrelly *et al.*, 1985).

La **Figure 6** illustre un schéma représentatif d'une cellule de cyanobactéries.

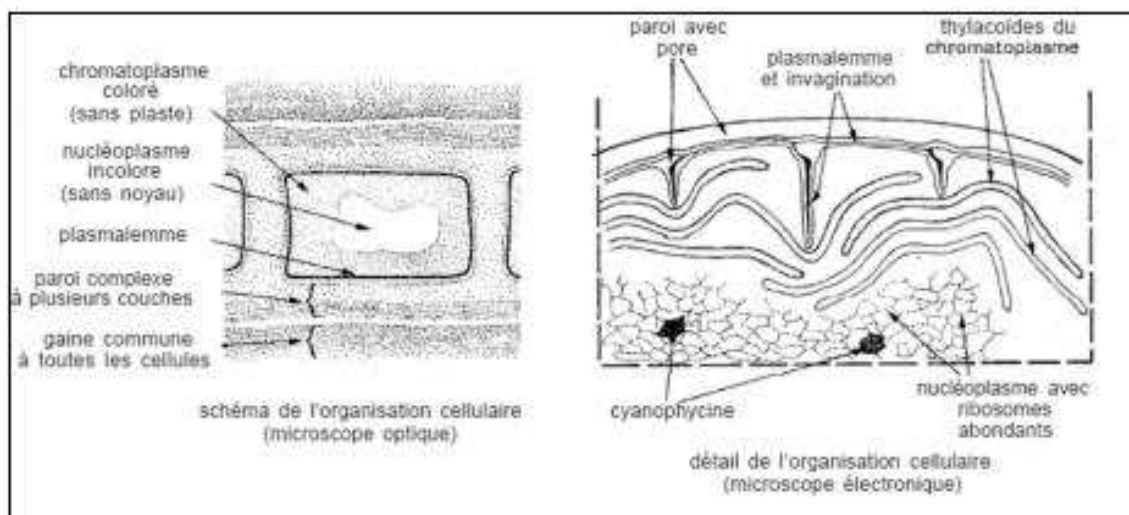


Figure 6 : Structure cytologique d'une cellule de cyanobactérie (Delépine, 1987).

La cellule de cyanobactéries est constituée de :

- ✓ **La gaine** : Située à l'extérieur de la paroi et manifeste un rôle de protection des cellules de la dessiccation et favorise la mobilité des trichomes (Silvano *et al.*, 2005).
- ✓ **La paroi** : La paroi des cyanobactéries est complexe, composée de plusieurs couches parmi lesquelles, la membrane externe qui renferme une structure voisine de celles des bactéries à Gram négatif (Des Abbayes *et al.*, 1978 ; Bourrelly *et al.*, 1985).
- ✓ **Les pores et perforations** : facilitent les échanges entre les cellules du filament et le milieu extérieur (Silvano *et al.*, 2005).
- ✓ **Le chromatoplasme** : Le chromatoplasme de forme thylakoïdes constitue l'appareil photosynthétique, qui contient de la chlorophylle *a* et plusieurs caroténoïdes dont la phycocyanine et phycoerythrine.
- ✓ **Le centroplasme** : Le nucléoplasme est l'équivalent du noyau mais dépourvu de membrane nucléaire et chromosome individualisé (Bourrelly *et al.*, 1985).

- ✓ **Les inclusions** : Les inclusions sont composées de granules de polyglucoside, granules de cyanophycine (réserves protéiques qui disparaissent lors de la germination des Akinètes), granules de polyphosphates et de vacuoles gazeuses.

3.4.2. Types cellulaires

Les cyanobactéries présentent trois types cellulaires différents (Komarek *et al.*, 2003) :

- ❖ **Les Cellules végétatives** : de formes variées rondes, ovoïdes, oblongues, quadratiques et avec un contenu cellulaire homogène ou non, avec ou sans vacuole à gaz et permet le fractionnement du filament en plusieurs segments (**figure 5 planche (C)**) (Coute *et al.*, 2001 ; Leitão *et al.*, 2005).

- ❖ **Les Hétérocystes** : elles sont faciles à reconnaître grâce à leurs parois épaisses et à leur contenu homogène faiblement coloré, assurent la fixation de l'azote atmosphérique grâce à la présence d'un enzyme de la nitrogénase. Leur forme est sphérique, cylindrique, voir conique. Leur position dans le trichome est soit intercalaire, soit terminal à l'une des extrémités seulement ou aux deux, ou encore latérale (**Figure 5 planche (D)**). Les hétérocystes sont généralement solitaires mais peuvent aussi apparaître en paire et plus rarement, en série (**Figure 5 planche (D)**) (Cout *et al.*, 2001 ; Leitão *et al.*, 2005).

- ❖ **Akinètes** : sont des spores, c'est à dire des cellules de résistance destinées à assurer la survie de l'espèce au cours des périodes climatiques difficiles ou de catastrophes écologiques (**Figure 5 planche (E)**). Lorsque les conditions extérieures redeviennent favorables, les cellules se détachent de l'organisme en cours de dégradation, germent et donnent une nouvelle cellule. Les akinètes ne peuvent être observées que dans les formes filamenteuses (*Nostoc*, *Anabaena*, *cylindrospermum...*) (Leitão *et al.*, 2005).

3.5. La multiplication

Les cyanobactéries se multiplient par voie asexuée, par division végétative suivant une ou plusieurs directions. Chez les formes filamenteuses, la fragmentation se fait au niveau des nécridies (cellules dégénérantes), puis les hormogonies (courts trichomes mobiles) sont libérées et peuvent se disperser (Rippka *et al.*, 1979).

3.6. Métabolisme des cyanobactéries

3.6.1. La photosynthèse

Les cyanobactéries sont des organismes photosynthétiques, dont leur photosynthèse se déroule majoritairement en aérobie. Les électrons sont alors issus de l'oxydation de l'eau, notamment grâce aux photosystèmes **PSI** et **PSII**. Cependant, certaines cyanobactéries peuvent effectuer

Rappel Bibliographique

leur photosynthèse en milieu anaérobie (les électrons sont alors issus de l'oxydation du soufre) (**Figure 7**). Dans certaines conditions anaérobiques, les cyanobactéries sont capables de pousser avec un métabolisme fermentaire. De nombreuses espèces ont manifesté une croissance hétérotrophe lors de l'utilisation d'un certain nombre de composés organiques (Stal *et al.*, 2007).

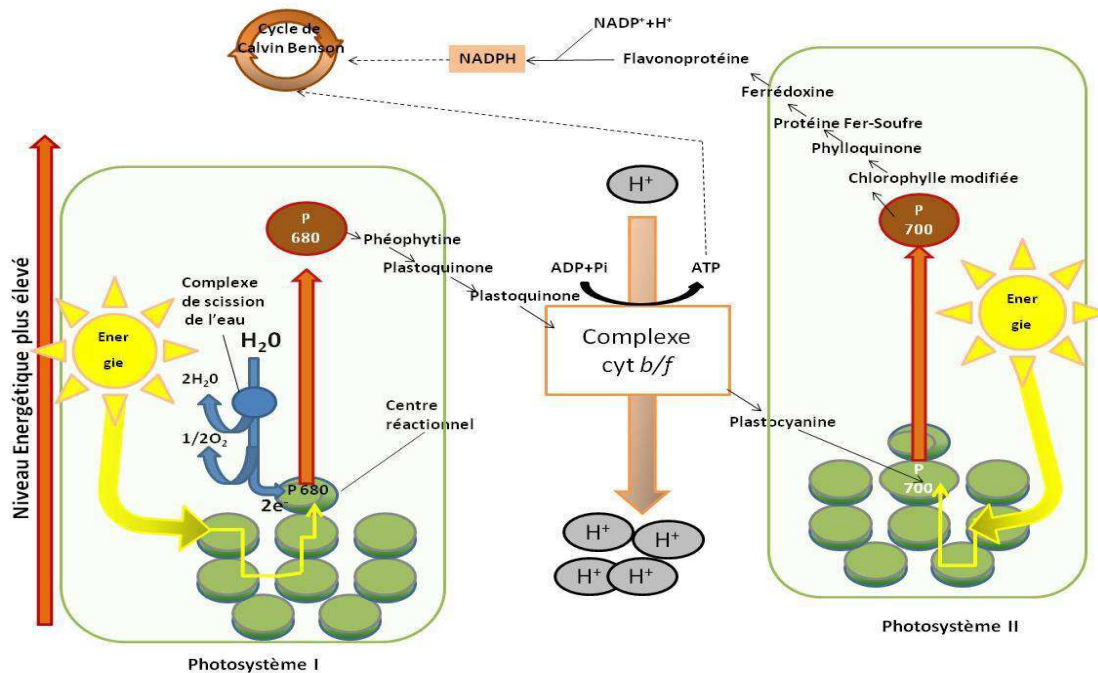


Figure 7 : Illustration de la photosynthèse oxygénique (Raven *et al.*, 2000).

3.6.2. Mode nutritionnel

Le mode nutritionnel des cyanobactéries peut être de trois types :

Photolithotrophie stricte : Ces cyanobactéries ne peuvent croître qu'en présence de lumière, leur donneur d'électrons est minéral (H₂O ou H₂S) et leur source de carbone est inorganique (CO₂).

Photohétérotrophie : La croissance se fait également en présence de lumière, la source d'électrons est minérale (H₂O ou H₂S), mais ce groupe de cyanobactéries est capable d'utiliser une source de carbone inorganique ou organique.

Chimiohétérotrophie facultative : Ces cyanobactéries sont phototrophes en présence de lumière, mais leur croissance peut également se dérouler dans l'obscurité en utilisant une source de carbone organique (limitée au glucose, au fructose et à quelques disaccharides) (Carrabin *et al.*, 2011).

3.7. Position taxonomique des cyanobactéries

Les cyanobactéries sont reconnues à la fois par le Code International de Nomenclature Botanique (Greuter *et al.*, 2000) et par le Code International de Nomenclature Bactériologique (Lapage *et al.*, 1992). Le premier se base essentiellement sur le mode de reproduction et la morphologie tandis que le second est fondé sur les critères physiologiques et génotypiques de cultures pures (**Tableau 3**).

La classification des botanistes est basée sur :

- ✓ La taille des cellules.
- ✓ La présence ou l'absence de gaine.
- ✓ La présence ou l'absence d'hétérocystes ou d'akinètes.
- ✓ La nature des organes reproducteurs (spores, homogonies) (Silvano *et al.*, 2005).

La classification des bactériologistes est basée sur des études comparatives de souches pures en culture (Stanier *et al.*, 1978 ; Rippka *et al.*, 1979 ; Rippka *et al.*, 1988). La morphologie et les caractéristiques physiologiques et génétiques (pourcentage en guanine-cytosine, hybridations ADN/ADN ou ADN/ARN) sont étudiées.

Cette classification a permis de réduire le nombre de taxons de 150 à 56 genres représentés dans le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Castenholz *et al.*, 2001), dans lequel les cyanobactéries constituent un phylum d'une seule classe divisée en 5 sous-groupes définis sur les caractères distinctifs représentés dans le **Tableau 2** (Castenholz *et al.*, 2001).

Rappel Bibliographique

Tableau 2 : Correspondance des deux systèmes de classification des cyanobactéries (Stanier *et al.*, 1971).

Classification bactériologique	Classification botanique	Description
Section I	Chroococcales	Formes unicellulaires ou coloniales, à multiplication par fission binaire et/ou formation d'exospores
Section II	Pleurocapsales	Formes coloniales à multiplication par fissions multiples formant des baeocytes.
Section III	Oscillatoriales	Formes filamenteuses unisériées, non hétérocytées, sans ramification, à division cellulaire perpendiculaire à l'axe du trichome.
Section IV	Nostocales	Formes filamenteuses à différenciation cellulaire (hétérocytes et akinètes), à division cellulaire dans un seul plan.
Section V	Stigonematales	Formes filamenteuses à différenciation cellulaire (hétérocytes et akinètes), présentant des ramifications (vraies ou fausses), à division cellulaire dans plusieurs plans.

3.8. Habitat

Les cyanobactéries sont répertoriées dans la plupart des habitats, aussi bien dans les milieux aquatiques que dans les milieux désertiques. Les cyanobactéries sont les seuls organismes photosynthétiques susceptibles de vivre dans des eaux thermales dépassant la température de 56°C et rencontrées dans des eaux à toutes les valeurs de pH. Elles poussent également sur les rochers où elles vivent en symbiose avec les champignons tels les lichens. Elles peuvent être endolithes, perforant les roches pour s'y réfugier, ou bien endophytes se trouvant dans les feuilles de fougères aquatiques (Silvano *et al.*, 2005). Lorsqu'elles sont strictement aquatiques, elles peuvent être planctoniques, vivant alors dans la colonne d'eau, ou benthiques, étant, dans ce cas, fixées ou très proches des divers substrats (roches, coraux, algues, animaux...) ou se développant même à l'intérieur des sédiments (Dumont *et al.*, 2006).

3.9. Ecologie des cyanobactéries

3.9.1. Cycle de développement des cyanobactéries

Les cyanobactéries sont présentes toute l'année dans les lacs mais ne forment habituellement de véritables blooms qu'à la fin de l'été ou au début de l'automne (Reynolds *et al.*, 1981). Le cycle de vie d'une espèce passe par les cinq phases suivantes : Phase de repos durant l'hiver, phase de remontée, phase de croissance active au printemps et au début de l'été, phase d'accumulation en surface à la fin de l'été et au début de l'automne, phase de disparition.

Les mouvements ascendants et descendants des colonies dans la colonne d'eau dépendent respectivement de l'augmentation ou de la diminution du nombre de vacuoles gazeuses dans les cellules.

3.9.2. La prolifération massive des cyanobactéries « bloom »

Un bloom est un développement rapide et massif des algues à la surface des lacs et d'étangs (Figure 9). Bien que les blooms puissent se reproduire naturellement et fassent partie du cycle annuel de développement des algues, certaines algues peuvent produire des blooms nuisibles. En particulier, les cyanobactéries peuvent former des masses et écumes vertes toxiques flottant sur la surface de l'eau et pouvant atteindre une épaisseur de plusieurs centimètres le long des bords du plan d'eau (Havens *et al.*, 2008).

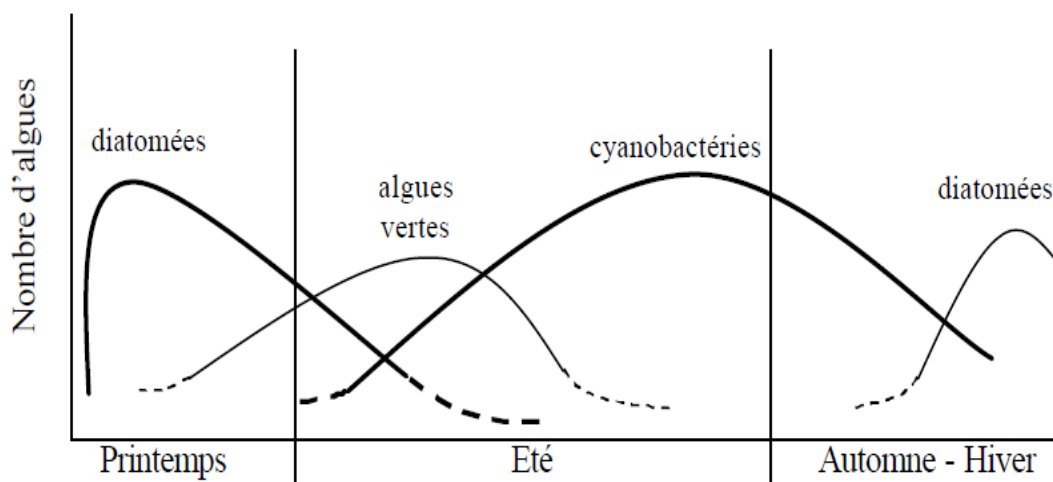


Figure 8 : Présentation de la succession saisonnière des différents types d'algues (Leitao *et al.*, 2005).



Figure 9 : Formation de blooms à la surface du lac Bécancour, Saint-Wenceslas. Québec (Blais, 2008).

3.9.3. Conditions de développement des cyanobactéries

De nombreux facteurs principaux peuvent expliquer la dominance des cyanobactéries dans les lacs eutrophes à la fin de l'été :

➤ La température de l'eau

La température optimale de croissance de l'ensemble des micro-algues, entre 20 et 25°C environ (Duy *et al.*, 2000 ; Oberholster *et al.*, 2004). Leur taux de croissance peut augmenter jusqu'à 35°C (Seckbach, 2007).

➤ La lumière

De manière générale, les cyanobactéries ont des besoins en lumière importants. Cependant, certaines ont des besoins plus faibles que ceux des autres micro-algues, ce qui explique leur développement plutôt en profondeur (inférieur à 2 m), d'autres espèces comme *Microcystis* qui se développe en surface, ayant des besoins plus importants (Chorus *et al.*, 1999).

➤ Les nutriments

- **Phosphore** : La présence de phosphore constitue une source essentielle pour la croissance et la prolifération des cyanobactéries. La présence d'une quantité suffisante pourrait avantager la croissance rapide des cyanobactéries. (Xie *et al.*, 2002 ; Downing *et al.*, 2001).

- **Azote** : L'azote joue un rôle dans la dominance des cyanobactéries. La présence d'une faible quantité d'azote favorise la croissance des bactéries fixatrices d'azote (Berman *et al.*, 2000).

➤ **La stabilité physique de la colonne d'eau**

Les cyanobactéries peuvent être en effet perturbées par des variations du niveau d'eau ou des mouvements de brassage internes du plan d'eau (Magnuson *et al.*, 2000 ; Weyhenmeyer *et al.*, 2001).

➤ **Le broutage par le zooplancton**

Le zooplancton se nourrit des autres micro-algues, ce qui favorise d'autant plus les cyanobactéries (Monestier *et al.*, 2006).

➤ **Le réchauffement climatique**

Le réchauffement climatique semble agir comme un catalyseur favorisant les proliférations des cyanobactéries partout dans le monde (Magnuson *et al.*, 2000 ; Weyhenmeyer *et al.*, 2001).

3.9.4. Phénomène d'eutrophisation et prédominance des cyanobactéries

L'eutrophisation est un processus de transformation, de vieillissement des lacs qui s'explique par la prolifération des plantes aquatiques et des algues. Ce phénomène est causé par un apport excessif en éléments nutritifs (soit naturel par remontée en surface des sels nutritifs du fond, soit accidentel par lessivage, dû à la pluie, aux engrais agricoles) (Silvano *et al.*, 2005), qui conduit à la modification du milieu aquatique touché.

L'eutrophisation a donc comme conséquence l'apparition de fleurs d'eau cyanobactériennes (Sigeo *et al.*, 2005). Enfin, les cyanobactéries sécrètent des sidérophores leur permettant de capturer les ions Fe^{3+} environnants et de limiter ainsi la croissance des éventuels compétiteurs (Castenholz *et al.*, 2001). Les populations cyanobactériennes finissent donc par dominer le phytoplancton du lac eutrophe (**Figure 10**).

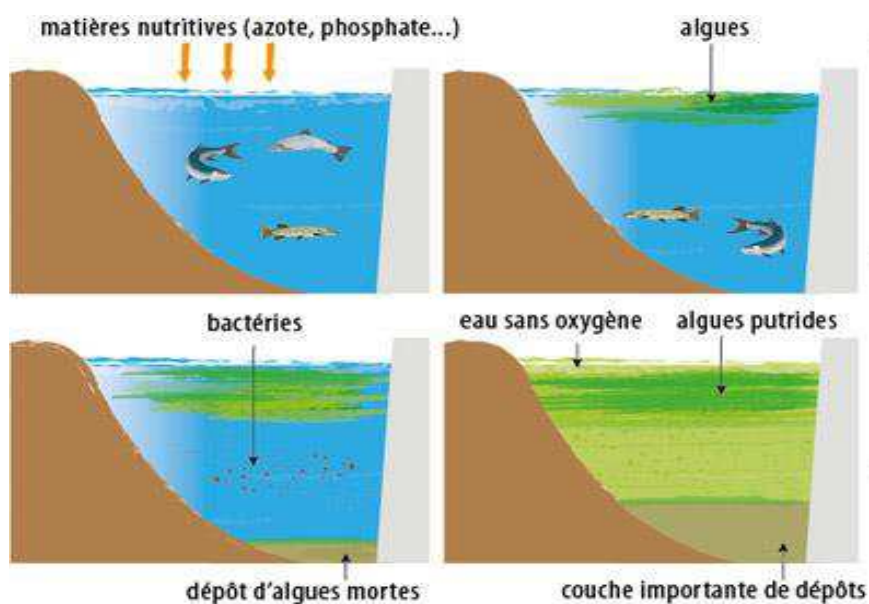


Figure 10 : Prédominance des cyanobactéries d'un lac eutrophe.

3.9.5. Effets indésirables de la prolifération des cyanobactéries

Quand les proliférations sont massives, les effets indésirables sont multiples :

Environnement et cadre de vie

- Modification de l'aspect de la ressource par une coloration inhabituelle (bleu, rouge ou verte), des irisations en surface et/ou des masses d'écume se déplaçant au gré des vents.
- Nuisance olfactive lors de la décomposition de la prolifération.
- L'eutrophisation des rivières et des lacs qui se traduit par une modification de la transparence et de la coloration des eaux due à la prolifération d'algues (Carmichael *et al.*, 1993).

Organismes du milieu

- Perturbation de la biodiversité de l'écosystème et des réseaux trophiques aquatiques.
- Mortalité de poissons par intoxication ou diminution de la teneur en oxygène de l'eau.
- Mortalités d'oiseaux, par intoxication directe ou via leur alimentation (mollusques, poissons...)
- Intoxication d'animaux domestiques ou sauvages par abreuvement à proximité d'écumes toxiques (chiens, vaches, moutons...) (Carmichael *et al.*, 1993).

4. Les cyanobactéries, des productrices de toxines

4.1. Généralités

Les cyanobactéries peuvent produire une grande variété de métabolites secondaires, dont des toxines « cyanotoxines » (Funari *et al.*, 2008). Ces cyanotoxines sont des métabolites

Rappel Bibliographique

ubiquitaires, généralement liées à la présence de fleurs d'eau cyanobactériennes (Edwards *et al.*, 2009). Toutefois, c'est pendant les floraisons cyanobactériennes que les concentrations de cyanotoxines sont les plus fortes (Sigeo *et al.*, 2005).

Le nombre de genres cyanobactériens producteurs de cyanotoxines est évalué à 40 genres (Van *et al.*, 2007).

4.2. Types de cyanotoxines

C'est lors de la lyse des cyanobactéries (provoquée lors du traitement de l'eau, ou naturelle lors de la sénescence des cellules) que le risque se manifeste réellement. Les cyanotoxines sont alors abondamment libérées dans le milieu, augmentant dangereusement sa concentration en cyanotoxines (Dyble *et al.*, 2008).

On distingue deux grands groupes de cyanotoxines : les cytotoxines, et les biotoxines (Jaiswal *et al.*, 2008).

4.2.1. Les cytotoxines

Les cytotoxines, parfois appelées composés bioactifs, sont des peptides cycliques ou aliphatiques, et ont une forte activité cytostatique et parfois même une capacité à inhiber spécifiquement certaines tumeurs alors que d'autres, comme la lyngbyatoxine les favorisent (Jaiswal *et al.*, 2008).

Bien que certaines d'entre elles soient tout de même responsables d'irritations cutanées ou de dermatites, Les cytotoxines sont généralement étudiées non pas pour leur toxicité vis-à-vis des vertébrés, mais pour leurs propriétés anti inflammatoires (Mayer *et al.*, 2005) antifongiques antibactériennes, anti-algales (Jaiswal *et al.*, 2008 ; Humpage *et al.*, 2008) et même anti-tumorales (Nagarajan *et al.*, 2012). (**Tableau 3**)

Rappel Bibliographique

Tableau 3 : Détermination des composés bioactifs ou « cytotoxine », extraits de cyanobactéries (Abarzua *et al.*, 1999 ; Burja *et al.*, 2001).

Species of cyanobacteria	Bioactive compounds	Biological activity	References
<u>Family oscillatoriaceae</u>			
<i>Lyngbya majuscula</i>	Malyngolide	Antibacterial	Burja <i>et al.</i> (2001)
	Lyngbyatoxins	PKC activator	(Shimizu 2003)
	Debromoplysiatoxin	Inflammatory	
	Curacin A	Microtubulin assembly inhibitors	
	Kalkitoxin	Sodium channel blocker	
	Cyclic polypeptide	Anti-HIV activity	Rajeev and Xu (2004)
<i>L. lagerheimii</i>	Sulpholipid	Anti-HIV activity	Rajeev and Xu (2004)
<i>Oscillatoria raci</i>	Acetylated sulfoglyco-lipids	Antiviral	Reshef <i>et al.</i> (1997)
<i>Phormidium tenue</i>	Galactosyldiacylglycerols	Antialgal	Murakami <i>et al.</i> (1991)
		Anti-HIV	Rajeev and Xu (2004)
<i>Phormidium</i> spp.	Thermostable enzymes	Catalysis of reactions	Piechula <i>et al.</i> (2001)
<i>Spirulina platensis</i>	Spirulan	Antiviral	Hayashi <i>et al.</i> (1991)
	Gamma linolenic acid	Predecessor of arachidonic acid	Cohen (1999)
	Vitamin B and E	Antioxidants and co-enzymes	Plavsic <i>et al.</i> (2004)
<u>Family hyellaceae</u>			
<i>Hyella caespitose</i>	Carazostatin	Antifungal	Burja <i>et al.</i> (2001)
<u>Family nostocaceae</u>			
<i>Nostoc spongiaeforme</i>	Nostocine A	Antialgal	Hirata <i>et al.</i> (1996)
<i>N. commune</i>	Nostodione	Antifungal	Bhadury and Wright (2004)
<i>Nostoc</i> sp.	Nostocyclamide	Antifungal	Moore <i>et al.</i> (1988)
<i>N. linckia</i>	Cyanobacterin LU-1	Antialgal	Gromov <i>et al.</i> (1991)
<i>N. insulare</i>	Norhamane	Antibacterial	Volk and Furkert (2006)
<i>N.sphaericum</i>	Indolocarbazoles	Antiviral	Cohen (1999)
<i>Anabaena circinalis</i>	Anatoxin-a	Inflammatory	Rajeev and Xu (2004)
<u>Family Scytonemaceae</u>			
<i>Scytonema holmannii</i>	Cyanobactericin	Antialgal	Abarzua <i>et al.</i> (1999)
<i>S. ocellatum</i>	Tolytoxin	Antifungal	Patterson and Carmeli (1992);
	Phytoalexin		Patterson and Bolis (1997)
<i>S. pseudoholmannii</i>	Scytophycins	Antifungal	Burja <i>et al.</i> (2001)
<u>Family microchaetaceae</u>			
<i>Tolyptrix tenuis</i>	Toyocamycin	Antifungal	Banker and Carmeli (1998)
<i>T. tjiapanensis</i>	Tjiapanazoles	Antifungal	Borjoklian <i>et al.</i> (1991)
<u>Family stigonemataceae</u>			
<i>Fischerella muscicola</i>	Fisherellin	Antialgal, antifungal	Dahms <i>et al.</i> (2006)
<i>Hapalosiphon fontinalis</i>	Hapalindole	Antifungal	Burja <i>et al.</i> (2001)
<u>Family merismopediaceae</u>			
<i>Gomphosphaeria aponina</i>	Aponin	Antialgal	Bhadury and Wright (2004)
<u>Family chroococcaceae</u>			
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Kawaguchipeptin B	Antibacterial	Dahms <i>et al.</i> (2006)
<i>Synechocystis</i> sp.	Naierones A-C	Antitumoural	Nagle and Gerwick (1995)
<i>Synechococcus elongatus</i>	Thermostable enzyme	Catalysis of reactions	Ohto <i>et al.</i> (1999)
<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	Thermostable polyphosphate kinase	Production of dipeptides	Sato <i>et al.</i> (2007)

4.2.2. Les biotoxines

Les biotoxines sont des poisons produits par les activités métaboliques des cyanobactéries, et qui sont libérés lors de la lyse cellulaire. Elles sont nommées biotoxines car leur activité toxique est testée sur l'animal (Hasley *et al.*, 1993).

Elles sont classées selon leur structure chimique en trois familles (les peptides cycliques, les alcaloïdes et les lipopolysaccharides) ou selon leur mode d'action. On distingue alors les

neurotoxines, les hépatotoxines et les toxines irritantes (Funari *et al.*, 2008 ; Humpage *et al.*, 2008).

4.2.2.1. Les hépatotoxines

Ce sont les cyanotoxines les plus fréquemment rencontrées, produites par des souches de *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria* et *Nostoc* (Hasley *et al.*, 1993). Des bioéssais en laboratoire ont montré que ces toxines provoquent à court et à long termes des altérations de la structure des cellules du foie, des insuffisances hépatiques et peuvent être à l'origine de cancers du foie (inhibition des phosphates et augmentation des phosphorylations (Brient *et al.*, 2002).

4.2.2.2. Les neurotoxines

Moins fréquentes que les hépatotoxines, elles sont des alcaloïdes regroupés en deux familles, les anatoxines et les saxitoxines (Brient *et al.*, 2002). Ces toxines sont très puissantes et provoquent la mort de nombreux animaux par paralysie du système respiratoire (Mahmood *et al.*, 1987; Feuillad *et al.*, 1992; Sivonen *et al.*, 1999; Briand *et al.*, 2003; Ballot *et al.*, 2004). Elles sont produites par les cyanobactéries du genre *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Lyngbya*, *Oscillatoria* et *Planktothrix* (Araoz *et al.*, 2010).

4.2.2.3. Les dermatotoxines

Elles peuvent être des alcaloïdes comme les lyngbyatoxines, mais aussi des lipopolysaccharides. Ces toxines sont produites par les cyanobactéries du genre *Lyngbya*, *Planktothrix* et *Schizothrix*. Par fixation sur les membranes cellulaires, elles sont à l'origine de dermatites, d'irritations oculaires, cutanées et semblent être des activateurs de tumeurs de la peau chez l'homme (Sivonen *et al.*, 1999 ; Rzymiski *et al.*, 2012).

4.3. Description de quelques genres de cyanobactéries

Les cyanobactéries sont des organismes de petite taille, de couleur et de forme variée, présents dans tous les milieux (Carmichael *et al.*, 1992 ; Sivonen *et al.*, 1999). La classification botanique d'Anagnostidis et de Komarek (1985-1989) met en évidence les quatre ordres suivants : Chroococcales, Oscillatoriales, Nostocales et Stigonematales (**Figure 8**). On peut citer certains genres qui sont les plus dominants dans les eaux douces.

Rappel Bibliographique

Genre *Pseudanabaena*

Pseudanabaena sp se présente sous forme de trichome droit avec des cellules isodiamétriques ou cylindriques (1-3 µm), mobiles, sans gaines et non ramifiés, avec des constriction au niveau des cloisons. La reproduction s'effectue par fission binaire. Les cellules possèdent des vacuoles à gaz polaire mais ne possède pas d'akinetes ni d'hétérocystes. (Janse van Vuuren S *et al.*, 2006) Le taux de G+C est entre 42 à 48%.

Parmi les espèces les plus fréquentes on trouve *Pseudanabaena catenata*, *Pseudanabaena limnitica*.

Genre *Oscillatoria*

Oscillatoria sp se présente généralement sous forme de trichome droit, les cellules ont une forme en disque (L : 0.8-26 µm x l : 0.6-60µm) et ne sont pas séparées par des constriction profondes selon les espèces, le trichome est unisériel, non ramifié, toujours mobile et la formation de la gaine n'est jamais prononcée. (Serediak *et al.*, 2011). La reproduction s'effectue par rupture du trichome. (Janse van Vuuren S *et al.*, 2006). Le taux de G+C est entre 40 à 50%. Parmi les espèces les plus fréquentes on trouve *Oscillatoria amophibia*, *Oscillatoria chlorina*.

Genre *Anabeana*

Les formes hétérocystées présentent exclusivement des fausses ramifications, les cellules végétatives sont de formes sphériques, ovoïdes ou cylindriques (Steinitz Kannan *et al.*, 2013). Les trichomes sont mobiles ou immobiles. Les hétérocystes sont intercalaires ou terminaux, la position des akinètes est variable. La cellule terminale est conique (forme mobile) ou indifférenciées (forme planctonique). Des vacuoles de gaz sont parfois présentes. La reproduction s'effectue par rupture des trichomes au hasard et par germination des akinètes. (Janse van Vuuren S *et al.*, 2006). Le taux de G+C est entre 38 à 44%.

Genre *Microcystis sp*

Microcystis sp est parmi les formes planctoniques unicellulaires qui se reproduisent par division binaire en 03 plans. Les cellules sont sphériques ou en forme de bâtonnets courts, les vacuoles à gaz sont habituellement présentes (Steinitz Kannan M *et al.*, 2013). Le taux de G+C est entre 39 à 45%. Ce genre synthétise des toxines de nature peptidiques (microcystines). Le genre *Microcystis* est distribué à travers tous les continents et est le plus communément associé aux fleurs d'eau toxiques. L'espèce type est *Microcystis aeruginosa* (Crayton M A, 1993).

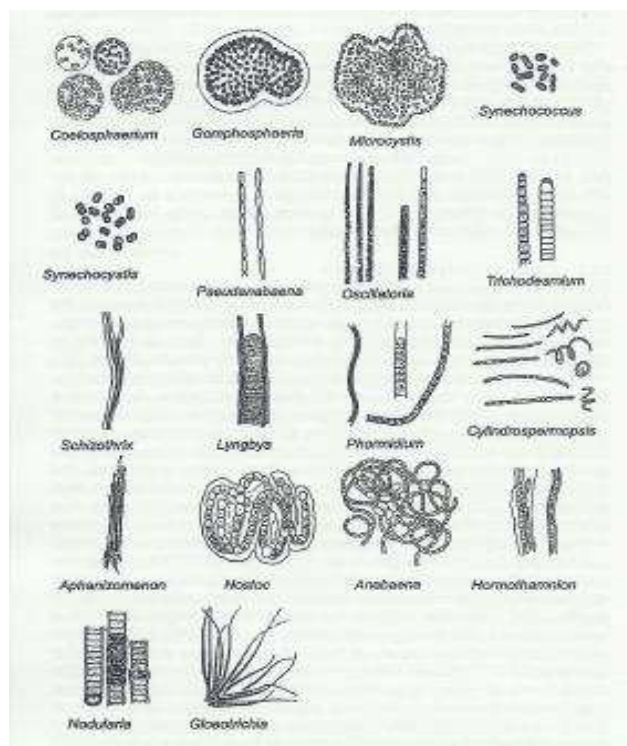


Figure 11 : Récapitulatif des cyanobactéries fréquemment rencontrés (Silvano, 2005).

5. Généralités sur les microorganismes

5.1. Les microorganismes pathogènes

Les microorganismes pathogènes sont des microorganismes qui possèdent des caractéristiques spécifiques leur permettant de déclencher une infection. Ces caractéristiques représentent les facteurs de virulence : les toxines, les hémolysines et les systèmes chélateurs de fer (Chouder, 2006).

5.2. Quelques souches pathogènes

5.2.1. *Escherichia coli*

C'est un bacille à Gram négatif, non sporulés, de 2,5 μm de long et 0,6 μm de large, anaérobie facultatif, parfois mobile possédant des cils péritriches et flagelles, présente dans l'intestin des êtres humains et de certains animaux, en particulier les ruminants (Blanc *et al.*, 2006). Ces bactéries sont, glucose positif, H_2S négatif, lactose positif, mannitol positif, sorbitol positif, β -galactosidase positive, uréase négative et indole négative (Nicklin, 2000).

E. coli est un type de bactérie vivant normalement dans les intestins des êtres humains et des animaux. Cependant, certains types de bactéries peuvent causer une infection intestinale (Blanc *et al.*, 2006).

Rappel Bibliographique

Les symptômes d'infection intestinale incluent la diarrhée, les douleurs abdominales et la fièvre. Les cas les plus graves peuvent causer de la diarrhée sanguinolente, de la déshydratation ou une insuffisance rénale. Les personnes dont le système immunitaire est affaibli, les jeunes enfants et les personnes âgées sont plus susceptibles de subir ces complications. *E.coli* est responsable des infections urinaires et méningites, elle est également responsable d'infections nosocomiales. C'est la bactérie pathogène la plus fréquemment retrouvée. Tendance vers l'acquisition de résistance aux antibiotiques (Blanc *et al.*, 2006).

5.2.2. *Staphylococcus aureus*

Appartient à la famille des Enterobacteriaceae, c'est une bactérie à Gram positif, immobile, non sporulé regroupés en diplocoques, en tétrades ou en amas, irréguliers (Robert, 2013). Ces bactéries sont : catalase positif, oxydase négatif, glucose positif, coagulase positif, mannitol positif et la majorité des *S. aureus* sont capsulés mais ils peuvent perdre leur capsule après culture (Callon, 2008). C'est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*, elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et dans certains cas extrêmes de septicémies physiques.

Le staphylocoque doré est fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales, qui sont contractées dans un établissement de santé. Cette situation est due à la sélection naturelle des germes dans l'écosystème hospitalier, Dans les hôpitaux, le risque de transmission du staphylocoque doré est majoré par l'utilisation de différents équipements médicaux : aiguilles, sondes, canules, cathéters, drains...etc. Les patients s'exposent notamment au risque de transmission du staphylocoque doré multirésistant (Nicklin, 2000).

5.2.3. *Proteus vulgaris*

Proteus vulgaris appartient à la Famille des Enterobacteriaceae. Germe commensal du tube digestif. Bacille très mobile, aéro-anaérobie, à Gram négatif, de 1 à 80 µm de longueur, oxydase négatif, nitrate positif, qui fermente le glucose et qui envahit la surface des milieux gélosés. gélatinase positive, indole négatif, TDA positif, uréase positive, H₂S positif, ONPG négatif, ODC négatif (Farmer J. J *et al.*, 1985).

Les espèces du genre *Proteus* sont largement répandues dans la nature et elles sont isolées du sol, de l'eau, de l'intestin de l'homme et de nombreuses espèces animales (Nicklin, 2000).

Cette bactérie est connue pour causer des infections nosocomiales. Plus un pathogène nosocomial reste sur une surface, plus il peut être une source de transmission. Ils sont aussi observés dans les voies urinaires hautes (siège fréquent de l'infection) et peuvent entraîner des urolithiases (formation de pierres dans le rein ou la vessie), des cystites et des pyélonéphrites

Rappel Bibliographique

aiguës. Cette bactérie a été aussi signalé dans le cas de septicémie et d'infection des plaies (Hickman *et al.*, 2010).

5.2.4. *Enterobacter aerogenes*

Appartient à la famille des Enterobacteriaceae. en forme de tige ,Ce sont des bacilles à Gram négatif généralement mobiles, lactose positif, catalase positif, citrate positif, indole négative (Fauchere *et al.*, 2002).

Les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, sont des pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses (Lachassinne *et al.*, 2004). *Enterobacter aerogenes* peut causer des infections dans de nombreuses parties du corps humain. Il est souvent une cause d'infections des voies respiratoires inférieures, y compris la pneumonie. Il peut également provoquer des infections de la peau et des tissus sous-jacents. Il peut causer aussi la cellulite, fasciite, abcès ou infections de plaies post-opératoires. Il peut atteindre le sang (bactériémie), et peut conduire à une septicémie. Rarement, la bactérie peut atteindre le liquide céphalo-rachidien, conduisant à la méningite. *E. aerogenes* se trouve généralement dans le tractus gastro - intestinal humain et ne cause généralement pas de maladie chez les individus sains (Nicklin, 2000).

5.2.5. *Klebsiella pneumoniae*

La *Klebsiella pneumoniae* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, bacille à Gram négatif, immobile, aéro-anaérobie donnant des colonies d'aspect muqueux, ONPG positive, VP positive, oxydase négatif, nitrate réductase positif, H₂S négatif, ODC négatif, urease positive, TDA négatif, glucose positif (Farmer J. J *et al.*, 1985).

Germe commensal du tube digestif et des voies aériennes supérieures, *K. pneumoniae* est fréquemment isolée de l'environnement (eaux usées, sol...etc.) et de la flore commensale des muqueuses et des voies respiratoires supérieures.

Elles sont fréquentes dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale.

Elles sont abondantes dans le sol, les eaux et sont des fixateurs de l'azote atmosphérique.

Germe opportuniste, il est impliqué dans des infections respiratoires (pneumonies, abcès pulmonaires, pleurésies), des infections intestinales et infections urinaires (Gopi *et al.*, 2008).

Elle a un effet cytotoxique sur les épithéliums des voies aériennes et peut être responsables d'infections nosocomiales. Il peut être également à l'origine d'infection des voies biliaires et des plaies chirurgicales. Il est responsable de rhinosclérome qui est une maladie moins fréquente mais également causée par des bactéries proches de *Klebsiella pneumoniae* (Gopi *et al.*, 2008).

5.2.6. *Salmonella typhimurium*

Les *Salmonella typhimurium* sont des entérobactéries, bacille à Gram négatif, mobiles pour la plupart (ciliature péritriche), aéro-anaérobies facultatifs, oxydase négatif, *Salmonella typhimurium* provoque une gastro-entérite, qui est souvent simple et n'a pas besoin d'un traitement, mais peut être sévère chez les jeunes, les personnes âgées et les patients ayant un système immunitaire affaibli (Evins *et al.*, 1989). C'est le sérotype le plus important de salmonellose transmise de l'animal à l'homme dans la plupart des régions du monde. Chez les souris *S. typhimurium* provoque des symptômes ressemblant à la fièvre typhoïde chez les humains. L'étude de ces bactéries chez les souris pourrait éventuellement mener à un vaccin contre la typhoïde (Wray *et al.*, 1978).

5.2.7. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à Gram négatif du genre *Pseudomonas*. Les bacilles sont fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire : ciliature monotriche, dépourvus de spores et de capsules. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles. (Gaby *et al.*, 1957).

Cette bactérie préfère les milieux humides et on la trouve quelquefois au niveau de la peau, de l'appareil respiratoire supérieur, de l'oreille externe et du tube digestif chez l'individu sain.

Germe ubiquitaire, vivant dans les sols et en milieu humide (nuages, robinets, bouchons), elle est avec d'autres bactéries à Gram négatif de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales. Ce terme concerne tout ce qui est relatif aux hôpitaux (Rene, 2012).

Plus généralement, il est employé pour une maladie contractée lors d'une hospitalisation. C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement. Le taux de mortalité atteint 50 % chez les patients immunodéprimés.

Les formes de pathologie qu'elle engendre sont diverses : infection de l'œil, plaies (surtout brûlures et plaies opératoires), des urines (surtout après sondages), gastro-intestinales et des poumons (par exemple après bronchoscopie), des méningites d'inoculation, des septicémies comme stade terminal d'infections graves ou complication chez des malades soumis à un traitement immunodépresseur, des leucémiques, etc. Elle induit facilement des infections systémiques chez les immunodéprimés (par une chimiothérapie ou par le sida) et chez les victimes de brûlures et de fibrose kystique (mucoviscidose) (Rene, 2012).

5.2.8. *Candida albicans*

Candida albicans est l'espèce la plus importante et la plus connue du genre *Candida*. La culture de *Candida albicans* sur gélose sang ou Sabouraud apparaît sous forme de colonies crémeuses de couleur blanc crème. Les critères d'identification de cette espèce sont : le test de germination positif, test chlamydospore positif, uréase négative sur milieu Christensen. (Pebret, 2003).

Au niveau morphologique, cette levure peut mesurer de 3 à 15 µm, et est caractérisée par un polymorphisme qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire.

Candida albicans est un champignon microscopique, habituellement inoffensif et que nous retrouvons sans effet pathologique, au niveau des voies génitales, du tube digestif, de la bouche et sur la peau (Christian, 2013). Dans certains cas, il peut devenir pathogène et provoquer une candidose, une infection fongique lorsque ce champignon atteint des organismes fragilisés dont les défenses immunitaires sont diminuées, comme chez les personnes porteuses du virus du SIDA ou les patients sous traitement immunosuppresseur (dans le cadre de traitements pour des cancers ou après une greffe). Généralement, les lésions causées par le *Candida albicans* sur les muqueuses ou la peau sont sans gravité. Mais elles peuvent être plus graves lorsqu'elles atteignent les viscères digestifs ou les poumons ; dans les cas extrêmes, une septicémie à *Candida albicans* est possible et de pronostic sévère. (Davet, 1996).

Une candidose est une infection fongique causée, cette infection peut s'avérer fatale quand elle atteint la circulation sanguine ou des organes vitaux comme le cœur, mais il s'agit de cas rares, même lorsqu'il s'agit de personnes dont le système immunitaire est affaibli, et encore plus rares quand elle touche des personnes en bonne santé. La candidose est néanmoins une source constante d'inconvénients, et parfois une menace grave pour les personnes atteintes du SIDA et pour certains patients atteints d'un cancer qui n'ont pas les ressources immunitaires nécessaires pour lutter contre cette infection (Christian, 2013).

5.2.9. *Aspergillus Niger*

Aspergillus Niger est un champignon et l'une des espèces les plus communes du genre *Aspergillus*. L'*Aspergillus Niger* est cosmopolite et d'occurrence très commune, il se développe sur la matière organique en conditions aérobies (Pebret, 2003). Cette espèce est un contaminant commun sur les divers substrats, il est trouvé dans le sol, dans le compost et sur la matière végétale en décomposition, il peut même se trouver sur les sols glacés et dans les environnements marins, mais il préfère habituellement les sols secs et chauds (Pebret, 2003).

A. Niger est moins susceptible de provoquer une maladie humaine que d'autres espèces d'*Aspergillus*. Dans des cas extrêmement rares, les humains peuvent devenir malades, mais cela

est dû à une maladie pulmonaire grave, l'aspergillose, qui peut se produire. L'aspergillose est en particulier, fréquent chez les horticoles travailleurs qui inhalent la tourbe poussière, qui peut être riche en spores d'*Aspergillus*. Il est trouvé dans les momies des anciennes tombes égyptiennes et peut être inhalé quand ils sont perturbés (Christian, 2013). *A. Niger* est l'une des causes les plus fréquentes d'otomycoses (infections fongiques de l'oreille), ce qui peut causer des douleurs, une perte auditive temporaire, et dans les cas graves, des dommages au canal de l'oreille et de la membrane tympanique. Il peut provoquer une maladie appelée la moisissure sur certains fruits et légumes comme les raisins, les abricots, les oignons et les arachides, et il est un contaminant commun de la nourriture. (Pebret, 2003).

5.2.10. *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus est une espèce de champignon ascomycète, thermopréférante et osmopréférante. Bonne croissance sur milieux de culture à 25°C. *Aspergillus flavus* est le principal producteur d'aflatoxines B1 (la plus importante), B2, G1 et G2. L'aflatoxine B1 est actuellement considérée comme le plus important agent carcinogène d'origine naturelle connu. Cet *Aspergillus* est particulièrement fréquent dans les régions chaudes et humides du globe (zones tropicales et sub-tropicales) (Pebret, 2003).

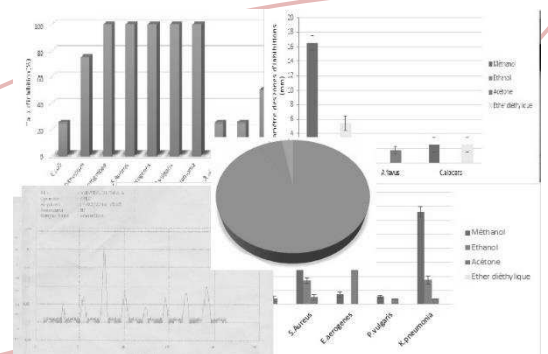
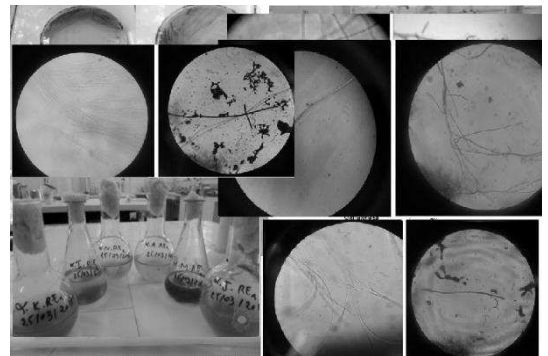
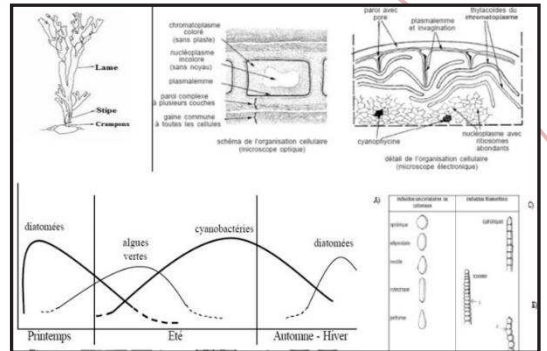
Cette moisissure est très cosmopolite (sol, matières organiques en décomposition, graines d'oléagineux, céréales). Elle est particulièrement abondante sur les arachides et ses dérivés, on la retrouve également dans les régions tropicales sur les niébés (haricots du Sénégal) et le riz. Il est souvent isolé du sol, des végétaux, des graines (il contamine les graines d'arachides et les rend impropres à la consommation car il sécrète des aflatoxines qui sont cancérigènes).

Chez l'homme il peut, comme *A. fumigatus* provoquer une pathologie pulmonaire, des kératites, des infections de la sphère oro-pharyngée. (Davet, 1996).

Aspergillus flavus provoque des allergies pulmonaires, des infections pulmonaires pouvant être invasives chez l'immunodéprimé, des kératites, des infections des sinus et des otomycoses. (Davet, 1996).

Chapitre II

Matériels et Méthodes



1. Présentation de la zone d'étude

1.1. Lac Sidi Mohamed Ben Ali

Le lac Sidi Mohamed Benali est situé à 1,7 km au nord de Sidi Bel Abbés (34°14' Nord et 0°38' Ouest), sur un plateau à 460 m d'altitude. Il est considéré comme l'une des plus importantes réserves naturelles de l'Ouest algérien (Kerfouf *et al.*, 2006).

La capacité portante du lac SMB est de 3.000.000 m³ avec une superficie maximale de 45 ha et une profondeur comprise entre 30 et 15 m. L'origine de l'eau est une déviation d'une partie des eaux de crues de l'Oued Mekerra vers le barrage Sarno au moyen d'un ouvrage de dérivation d'une capacité de 2.5 m³/s. La température maximale atteint les 33 °C en période estivale, alors qu'en hiver la température minimale est de 5 °C (Boudiffa *et al.*, 1993). Le lac SMB a pour rôle la décantation des eaux de crues de l'oued Mekerra et le soutien au barrage Sarno (Bendjelloul *et al.*, 2005).

1.2. Barrage Sarno

Le barrage Sarno se trouve à 16 km au nord de la ville de Sidi Bel Abbes, situé à 3.5 km du confluent de l'oued Sarno et à 2.5 Km de Sidi Hamadouche. Le barrage est destiné à l'alimentation en eau potable et à l'irrigation avec une capacité de 22 hm³. La moyenne des températures minimales est de 7°C et celle des températures maximales varie entre 29 et 35 °C (Reguieg *et al.*, 2013). La superficie retenue du barrage Sarno est de 3000 ha avec un débit annuel estimé à 10 millions m³ et une Capacité emmagasinée de 22 millions m³.

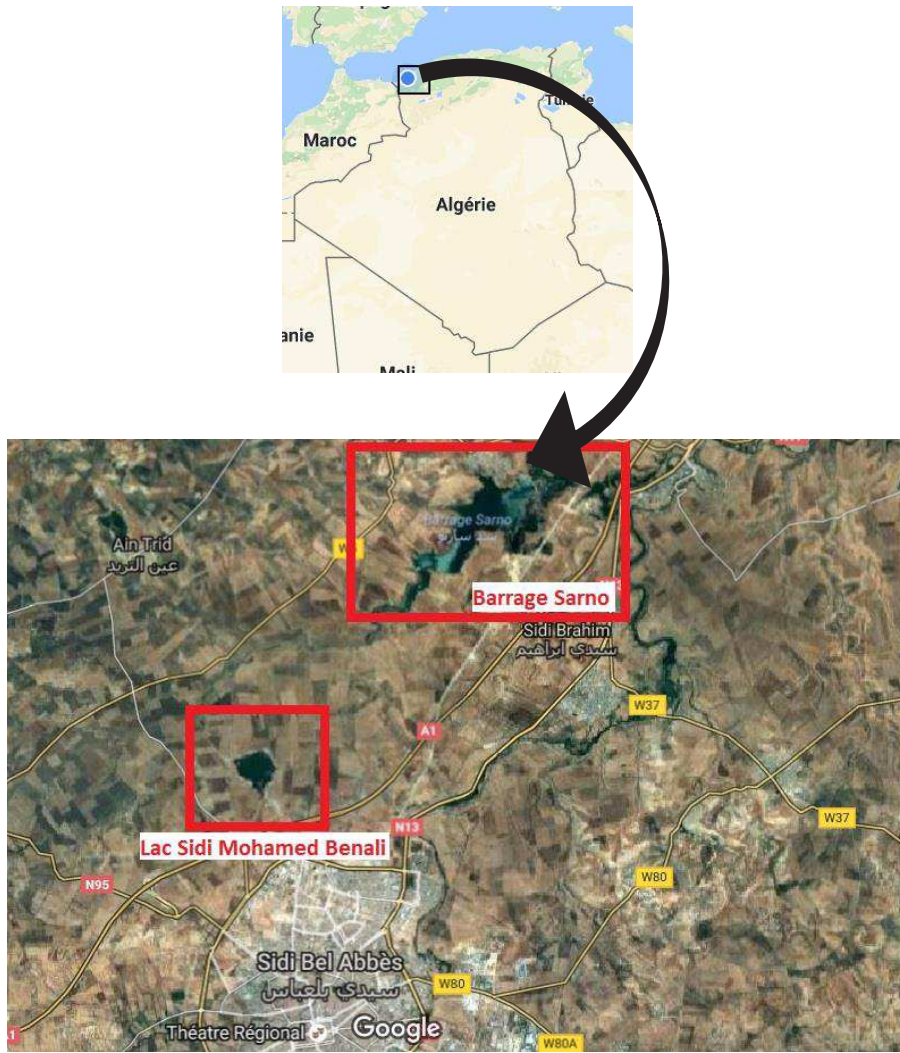


Figure 12 : Image satellite du barrage Sarno et du lac Sidi Mohamed Benali (Google Maps, 2016).

2. Echantillonnage

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté ; il conditionne les résultats analytiques et l'interprétation qui en sera donnée (Rodier *et al.*, 2009).

Les prélèvements sont effectués à partir de deux sites (eaux douces du lac SMB, du barrage Sarno). Avant de choisir la station de l'échantillonnage, une reconnaissance visuelle est effectuée afin de permettre de détecter des informations indispensables telles que la couleur de l'eau, la direction du vent, la présence de fleurs d'eau ou toutes autres observations pertinentes (mauvaises odeurs...). Le prélèvement de l'eau douce de surface du lac de SMB est effectué au centre du lac à une profondeur de 4.5 m. Cependant, le prélèvement de l'eau du barrage Sarno est effectué au bord. L'échantillonnage est réalisé dans la matinée, car les cyanobactéries se déplacent en fonction de la lumière.

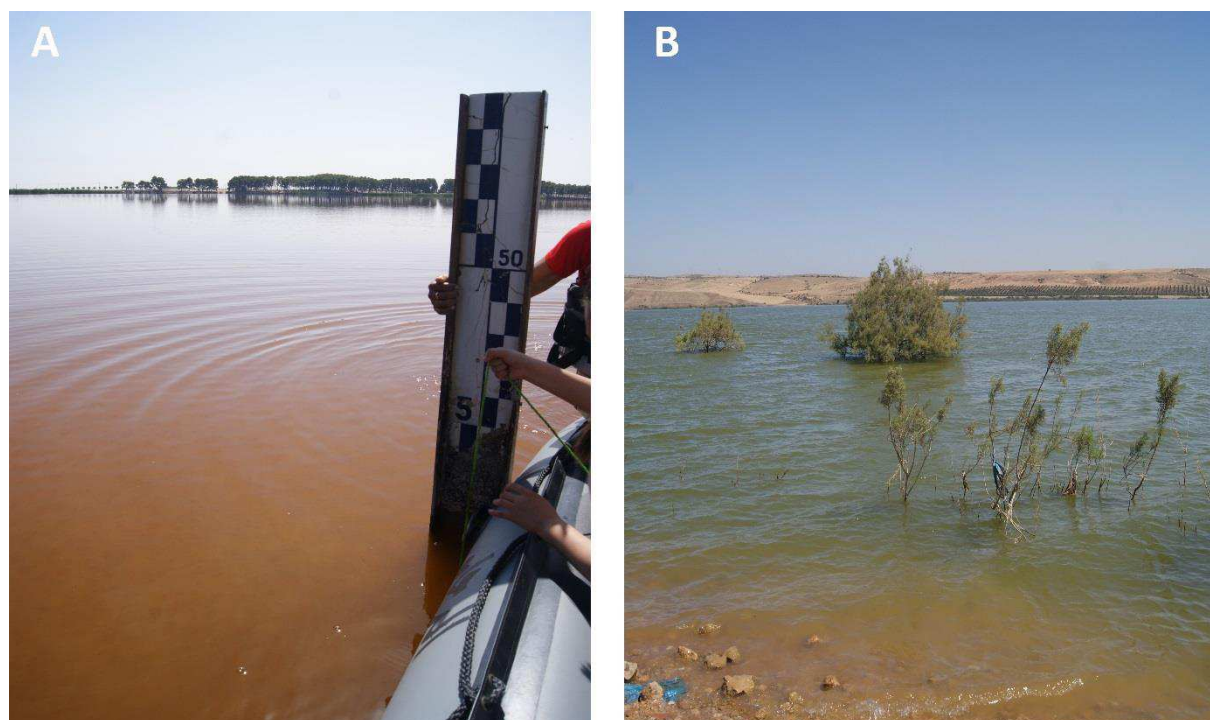


Figure 13 : Présentation de la station d'échantillonnage de l'eau du lac SMB (A) et du barrage Sarno (B).

2.1. Techniques de prélèvement

Deux types de prélèvements sont effectués

2.1.1. L'isolement des cyanobactéries

Les prélèvements sont effectués dans des flacons en verre stériles à une profondeur de 50 cm. Le remplissage et la fermeture immédiate des flacons se font sous la surface de l'eau. Les flacons sont remplis à environ 80 % pour que le jeu d'air permette le brassage adéquat de l'échantillon. Le prélèvement d'eau en profondeur s'effectue à l'aide d'une bouteille avec un bouchon en liège dans laquelle un pois est fixé au-dessus pour permettre à la bouteille d'être plongé profondément.

2.1.2. Prélèvement pour les analyses physico-chimiques

Les prélèvements sont effectués dans des flacons en plastiques des eaux minérales (de capacité 1,5 L). Les flacons sont rincés 3 fois successives avec de l'eau qu'ils doivent contenir. Les flacons sont munis d'une étiquette comportant la codification suivante Exemple : SMB- Site 1-07/07/2014 (Silvano *et al.*, 2005).

Une fiche de terrain est élaborée, contenant les données suivantes ; la date et l'heure du prélèvement, les données météorologiques, la surveillance des fleurs d'eau, la profondeur du disque de Secchi (Brient, 2004). Un exemple de fiche de terrain en date du 07 juillet 2014 est présenté en annexe 3.

3. Mesure des paramètres physico-chimiques

Au cours de l'échantillonnage des paramètres physico-chimiques sont mesurés :

3.1. La température

La température joue un rôle majeur dans la répartition des espèces et des communautés d'être vivants dans le milieu naturel, et du contrôle de la respiration, ainsi la croissance et la photosynthèse (Rodier *et al.*, 2009). Les mesures de la température sont réalisées *in situ* au moment de l'échantillonnage, un thermomètre est plongé dans l'eau, pour une durée égale au moins 3 minutes afin de stabiliser la température.

3.2. La conductivité

Elle permet de mesurer la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes. Elle permet donc d'apprécier la quantité des sels dissous dans l'eau. Une conductivité élevée traduit le plus souvent une salinité élevée (Rodier *et al.*, 2009). Les mesures de la conductivité sont effectuées à l'aide d'un conductimètre.

3.3. Le pH

Le pH en milieu aquatique est essentiellement fonction de la composition chimique de la solution aqueuse et de l'activité des organismes (l'activité de certains organismes peut varier d'une manière exceptionnelle en fonction du pH de l'eau) (Lechlok *et al.*, 2014).

Les mesures du pH sont effectuées à l'aide d'un appareil multiparamètre HACH. L'opération consiste à faire plonger la sonde dans l'eau puis attendre quelques secondes avant de lire les résultats après stabilisation de l'affichage de la valeur sur l'écran.

3.4. La zone euphotique

La zone euphotique est la zone aquatique comprise entre la surface et la profondeur maximale d'un lac, exposée à une lumière suffisante pour que la photosynthèse se produise. La profondeur de la zone photique peut être grandement affectée par la turbidité saisonnière. Elle est mesurée avec un disque de Secchi. Pour ce faire, on fait descendre le disque dans l'eau et on note la profondeur à laquelle le disque disparaît à la vue. On prend au moins deux mesures à chaque site ou station d'échantillonnage et on estime la profondeur optique selon la moyenne de ces deux mesures. Idéalement, la mesure effectuée au moyen d'un disque de Secchi doit être exacte à ± 1 cm.



Figure 14 : Mesure de la profondeur de la zone photique du lac SMB.

4. Transport et conservation des prélèvements

Les échantillons prélevés sont conditionnés à l'obscurité et à faible température afin d'éliminer la prolifération d'espèces indésirables. Le transport est effectué dans une glacière à une température de 4°C, les échantillons sont conservés au réfrigérateur (Claisse *et al.*, 2007).

5. Dosage des éléments nutritifs

Les techniques du dosage des différents éléments nutritifs sont réalisées selon la norme internationale relative à la qualité des eaux décrites par ISO (International Organisation for Standardization) (ISO/TC 147,1994). Les concentrations en mg/l des éléments dosés sont calculées d'après les courbes étalonnages établies.

5.1. Dosage des nitrites (NO₂)

Dans le cycle de l'azote, les ions nitrites sont des intermédiaires entre l'azote ammoniacal et les ions de nitrate. Les concentrations généralement trouvées dans les eaux douces varient entre 0 à quelques micromoles d'azote nitreux par litre (Aminot *et al.*, 1983). Cette technique est basée sur la réaction des ions nitrites présents avec le réactif amino-4 benzène sulfonamide en présence d'acide orthophosphorique afin de former un sel diazoïque, qui donne un complexe de coloration rose avec le dichlorhydrate de N-(naphtyl -1) diamino-1.2 éthane.

Cette coloration est mesurée à une longueur d'onde de 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Hill, 1991). Le dosage du taux de NO₂ est effectué par rinçage du récipient avec l'eau préfiltrée, destinée pour les analyses. Un volume de 50 ml d'eau est ajouté à un volume de 1 ml du réactif R1 et un volume de 1 ml du réactif R2. Le mélange est homogénéisé, incubé à une température ambiante pendant 10 minutes. La lecture est effectuée à une longueur d'onde de 540 nm à l'aide d'un spectrophomère.

5.2. Dosage des nitrates (NO₃)

Les nitrates représentent la forme oxydée stable de l'azote en solution aqueuse et entrent dans le cycle de l'azote comme support principal de la croissance du phytoplancton (Gaujous, *et al.*, 1995). Cette technique très sensible est basée sur la réaction des nitrates avec le diméthyl-2.6phénol en présence des acides sulfuriques et phosphoriques, traduite par la production du nitro-4 diméthyl-2.6 phénol de couleur rose crevette.

Cette coloration est mesurée à une longueur d'onde de 324 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Mesplède *et al.*, 1983). Le dosage du nitrate est effectué par rinçage du récipient avec l'eau préfiltrée, destinée pour les analyses. Un volume de 2 ml d'eau est ajouté à un volume de 14 ml du mélange acide et un volume 2ml de Diméthyl-2.6 phynol. Le mélange est homogénéisé,

incubé à une température ambiante pendant une période comprise entre 10-60 minutes. La lecture est effectuée à une longueur d'onde de 324 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

5.3. Dosage d'azote ammoniacal (NH₄)

L'azote ammoniacal provient des excréments animales et de la biodégradation des composés organiques azotés, utilisés par le phytoplancton comme source d'azote (Gaujous *et al.*, 1995). Cette technique est basée sur la mesure l'absorption de composé bleu formé lors de la réaction de l'ammonium avec les ions salicylate hypochlorite, en présence de nitropentacyanoferrate (III) de sodium (nitroprussiate de sodium) à une longueur d'onde de 665 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le dosage de l'azote ammoniacal est effectué par rinçage du récipient avec l'eau préfiltré, destinée pour les analyses. Un volume de 100 ml d'eau est ajouté à un volume de 5 ml du réactif R1 et un volume de 5 ml du réactif R2. Le mélange est homogénéisé, placé à l'abri de la lumière à température ambiante, pendant un intervalle de temps de 6 heures. La lecture est effectuée à une longueur d'onde de 665 nm après 24 heures d'incubation, lors de l'apparition des troubles visibles.

6. Fabrication d'un incubateur de culture des cyanobactéries

L'absence d'un incubateur approprié, équipé d'une source de lumière indispensable pour les cultures des cyanobactéries au sein de notre laboratoire de recherche, nous a conduit à développer une conception de construire notre propre étuve d'incubation.

A cet effet, nous avons conçu un incubateur de 100 cm de long, de 60 cm de large et de 60 cm de hauteur avec une paroi intérieure et extérieure en polychlorure de vinyle (PVC), muni d'une source de chaleur, de refroidissement et de lumière avec une intensité lumineuse de 2000 lumens. Une couche de laine de verre est introduite entre les deux parois, afin de maintenir la température comprise entre 25 et 26°C durant la période d'incubation. L'incubateur renferme un régulateur de temps qui permet une incubation photopériodique de 12 heures d'alternance entre la lumière et l'obscurité.



Figure 15 : Présentation d'un incubateur de cyanobactéries, isolées à partir des eaux douces.

7. Isolement et purification des cyanobactéries

L'isolement des colonies de cyanobactéries s'effectue généralement par étalement des dilutions décimales des échantillons d'eau sur des boîtes de Pétri, contenant un milieu de culture BG11 gélosé, incubé à une température de 25°C pendant un intervalle de temps de 12 heures d'alternance entre la lumière et l'obscurité. Des repiquages successifs permettent d'obtenir des colonies pures. Les échantillons d'eau contiennent souvent une importante flore microbienne et algale variée, dont leur croissance rapide empêche considérablement l'isolement des cyanobactéries. (Stanier *et al.*, (1971) ; Howard *et al.*, (1973) ; Rippka *et al.*, (1997) ; Rippka *et al.*, (1988) et Ferris *et al.*, (1991) ont rapporté sur de nombreuses méthodes préconisées, qui ont permis l'élimination de la prolifération des champignons et des bactéries et la réduction de la proportion des chlorophycées et des diatomées. Ces méthodes sont basées essentiellement sur l'utilisation des milieux de culture gélosé, additionnés d'antibiotiques et d'agents antifongiques.

7.1. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture BG11 utilisé pour l'isolement des cyanobactéries est un milieu de culture sélectif contenant les ingrédients suivants : du CO₂ comme source de carbone (souvent sous forme de carbonate de soude), du nitrate ou de l'ammoniac comme source d'azote, du sulfate, du phosphate et une série de minéraux, ajustés à une valeur de pH 7,1 (Prescott *et al.* , 2003). La solution de citrate de fer ammoniacal est préparée, le milieu de culture BG11 est additionné de nystatine et streptomycine à des concentrations de (100 µg/l, de 0.05 g/l) respectivement.

7.2. Isolement des cyanobactéries

7.2.1. Isolement des cyanobactéries par la méthode de filtration sous vide

Les échantillons d'eaux douces collectés sont filtrés par l'utilisation d'un filtre millipore en nitrate de cellulose de diamètre 0.44 μm , le filtre est ensuite récupéré à l'aide d'une pince stérile dans des conditions d'asepsie, déposé sur la surface du milieu de culture gélosé BG11 (**Figure 17**). Les boîtes de Pétri sont incubées à une température de 25°C sous un flux lumineux de deux tubes fluorescents d'une intensité de 2000 lumens avec une photopériode alternée de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité pendant un intervalle de temps de 30 jours (**Figure 16**).

7.2.2. Isolement des cyanobactéries par la méthode d'inondation

Cette méthode consiste à prélever un volume de 1 ml, à partir de la solution mère à l'aide d'une pipette stérile, introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique afin d'obtenir une dilution 10^{-1} . Parallèlement, un volume de 100 μl de la solution mère et des dilutions décimales préalablement préparées sontensemencés par la méthode d'inondation dans des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture gélosé BG11 (**Figure 17**).

Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à une température de 25°C en présence d'un flux lumineux de deux tubes fluorescents d'une intensité de 2000 lumens avec une photopériode alternée de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité pendant un intervalle de 30 jours (**Figure 16**).



Figure 16 : Isolement des cyanobactéries à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens.

Matériels et Méthodes

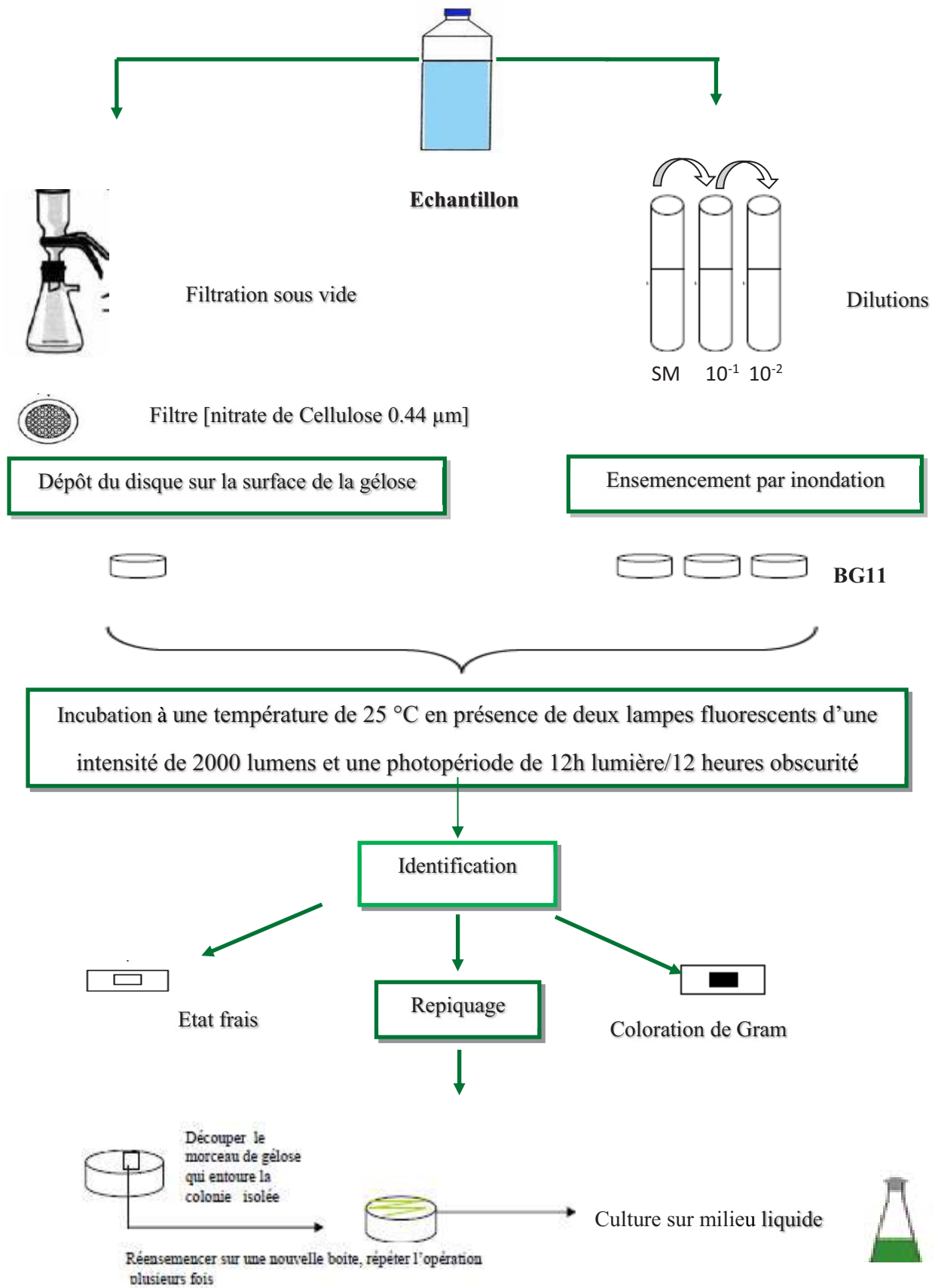


Figure 17 : Méthode d'isolement des cyanobactéries à partir de l'eau douce du lac SMB et du barrage Sarno.

8. Identification des cyanobactéries

L'identification des cyanobactéries est essentiellement basée sur l'étude de leur morphologie (Bourrelly, *et al.*, 1985 ; Rippka *et al.*, 1988 ; Castenholz *et al.*, 2001).

Les critères d'identification des cyanobactéries retenus sont :

- La structure de micro algues (cellulaire ou filamenteuse).
- La forme de la colonie ou du trichome.
- La taille et la couleur.
- La présence ou l'absence de gaine gélatineuse (couleur et aspect), akinètes, hétérocystes, vacuoles à gaz (pseudovacuelles).

8.1. Examen macroscopique

L'aspect macroscopique des colonies de cyanobactéries est très variable selon les espèces :

✓ Des formes coloniales de couleur verte, irrégulières, plates avec une croissance planaire sur le long de la surface de la gélose l'absence de la forme définissable (Saoudi, 2008).

✓ Des formes filamenteuses régulières avec une croissance aléatoire, planaire sur le long de la surface de la gélose, enfoncée dans l'agar. La couleur des filaments varie entre le vert et le brun marron (Oufdou *et al.*, 2009).

8.2. Examen microscopique

L'observation des colonies au microscope optique permet la sélection micro-morphologique des cyanobactéries, deux examens sont réalisés à cet effet :

8.2.1. Examen microscopique à l'état frais

L'examen microscopique à l'état frais permet l'appréciation de la forme et du mode de regroupement des cyanobactéries isolées (Camille *et al.*, 1998).

8.2.2. Coloration de Gram et l'observation microscopique

La coloration de Gram est un procédé différentiel qui permet la classification de deux groupes bactériens selon la composition chimique de leur parois cellulaire (Prescott *et al.*, 2003).

9. Repiquage et purification

Les repiquages sont effectués après observation au microscope sous une loupe binoculaire des filaments, incubées pendant 30 jours. Cette technique est fréquemment répétée jusqu'à obtention des colonies pures de cyanobactéries et de culture uni-algale

10. Préparation de la culture des souches de cyanobactéries sur milieu liquide

Les colonies isolées, purifiées de cyanobactérie sont ensemencées dans des Erlenmeyers, contenant un volume de 150 ml du milieu de culture BG11 liquide, incubées à une température de 25 °C en présence d'un flux lumineux de deux tubes fluorescents d'une intensité de 2000 lumens, avec une photopériode alternée de 12 heures de lumière, 12 heures d'obscurité pendant un intervalle de 30 jours.

11. Test de l'activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antagoniste des substances élaborées par les cyanobactéries permet la détermination de la sensibilité des souches pathogènes vis-à-vis d'un ou de plusieurs métabolites produits chez ces cyanobactéries. Quatre souches de cyanobactéries sont testées pour évaluer leur activité antagoniste sur les souches de références pathogènes suivantes :souches à Gram-négative ; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 6896 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 souches à Gram-positives ;*Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterobacter aerogenes* ATCC 35029, sur la levure; *Candida albicans* ATCC 20408, et sur les champignons filamenteux ; *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aspergillus flavus* ATCC 10124. Les souches bactériennes responsables d'infections nosocomiales proviennent d'institut Pasteur d'Alger, Algérie. Les souches fongiques proviennent du laboratoire de l'unité de recherche INRA, Sidi Bel Abbès, Algérie.

11.1. Extraction des substances intracellulaires et extracellulaires

Les cultures des cyanobactéries, inoculées sur le milieu de culture BG 11 liquide, incubées pendant 30 jours sont centrifugées à 5000 rpm pendant 15 minutes. Le surnageant récupéré dans les conditions d'asepsie est mis en évidence pour l'étude de l'activité antagoniste vis-à-vis de certaines souches pathogènes responsables d'infections nosocomiales (Oufdou *et al.*, 2009).

La biomasse des cyanobactéries récoltée est séchée sur papier de Watman stérile, contenu dans des boîtes de Pétri, incubée à une température de 30°C (**Figure 17**), une pesée de 20 mg de la biomasse est ensuite mélangée à un volume de 15 ml de chaque solvant à savoir le méthanol, l'éthanol, l'acétone, et l'éther diéthylique, laissée à l'obscurité pendant 24 heures. Les extraits de cyanobactéries sont ensuite centrifugés à 5000 rpm/15 minutes. Les surnageants obtenus sont mélangés, concentrés par le rotavapor afin d'éliminer le solvant (Oufdou *et al.*, 2009) (**Figure 18**). Un volume de 1ml de DMSO est ajouté à l'extrait de cyanobactérie concentré et conservé à une température de 4 °C.

11.2. Préparation des pré-cultures des souches pathogènes

Les souches bactériennes de références utilisées sont les suivantes : souches à Gram-négative ; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 souches à Gram-positive ; *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterobacter aerogenes* ATCC 35029. Les colonies sont inoculées dans un bouillon nutritif et incubées à une température de 37 °C pendant 24 heures.

Candida albicans ATCC 20408 et les champignons filamenteux ; *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aspergillus flavus* ATCC 10124 sontensemencés dans le bouillon de Sabouraud, incubée à 30°C pendant 72 heures, Des inoculums sont prélevés, ensemencés sur le milieu de culture gélosé de Sabouraud.

Matériels et Méthodes

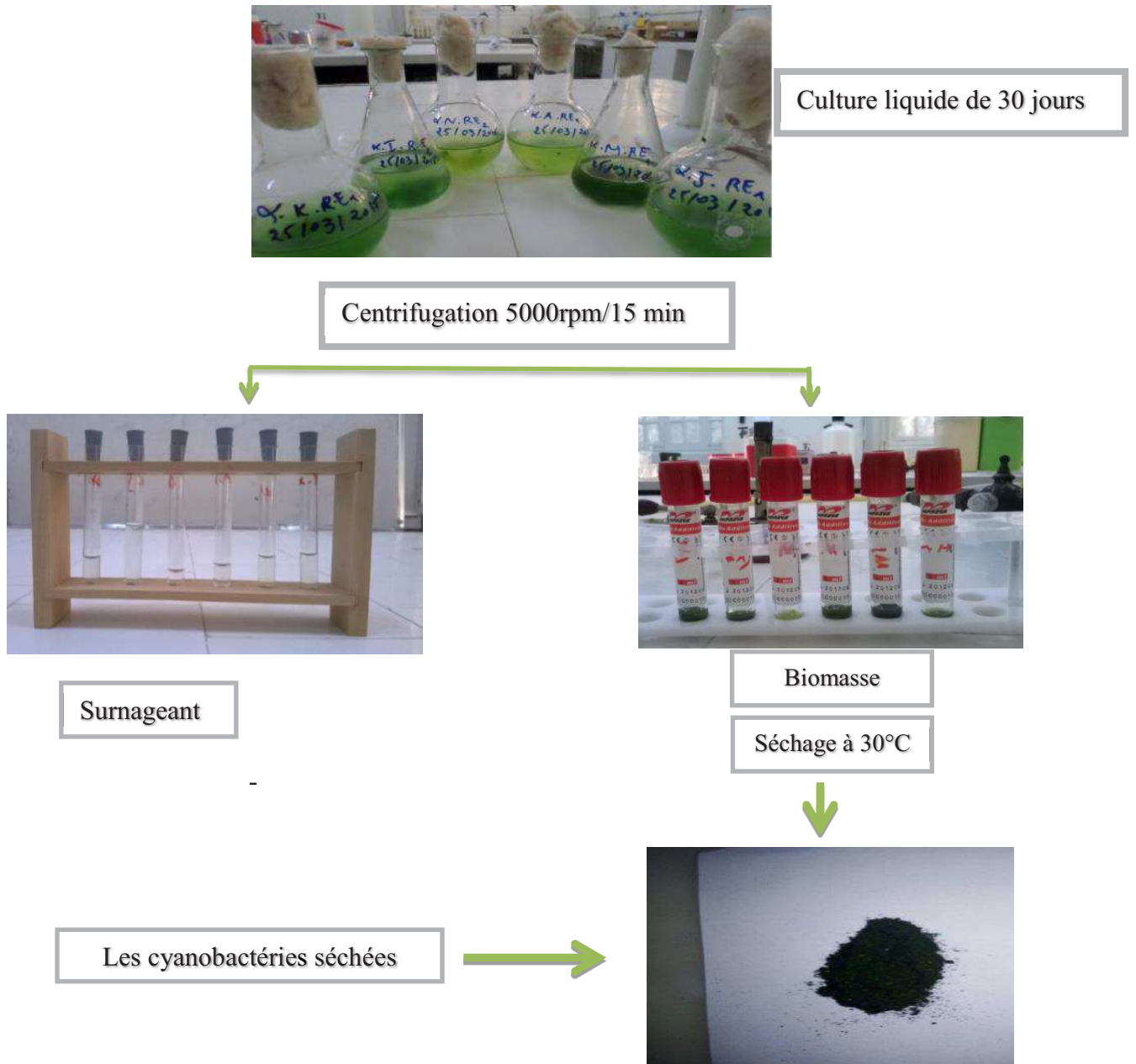


Figure 18 : Les étapes pour la récolte de la biomasse des cyanobactéries séchées.

Matériels et Méthodes

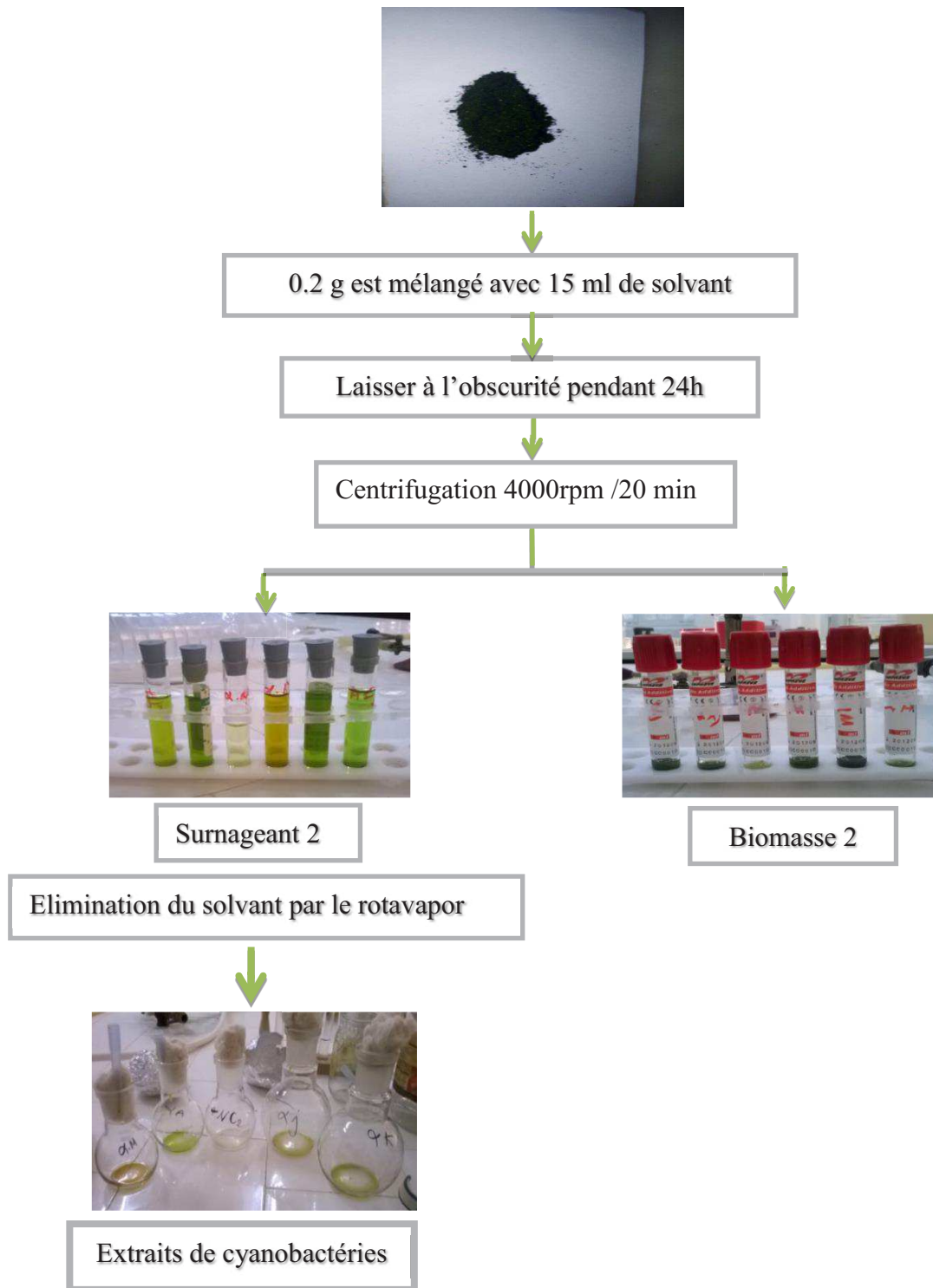


Figure 19 : Les étapes de la récupération des extraits de cyanobactéries, isolées de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens.

11.3. Etude de l'activité antagoniste des cyanobactéries isolées du lac de SMB et barrage Sarno

L'étude de l'activité antagoniste vis-à-vis de certaines souches pathogènes témoins est réalisée par la technique de diffusion des puits.

La préparation de l'inoculum est réalisée en prélevant une à deux colonies et les suspendre dans 9 ml d'eau physiologique stérile. La densité de l'inoculum est ajustée afin d'avoir une turbidité voisine à celle de 0,5 Mc Farland qui est équivalente à 10^8 UFC/ml (Aboun *et al.*, 2001 ; Prescott *et al.*, 2003). Ceci est effectué pour chaque souche bactérienne pathogène cité auparavant.

A l'aide d'un écouvillon stérile un inoculum est prélevé à partir de la suspension bactérienne ajustée et étalé sur la surface du milieu de culture Muller-Hinton à trois reprises.

La boîte de Pétri est tournée de 60° environ en vue d'assurer une distribution homogène de l'inoculum. Des puits sont découpés à l'aide de pipettes Pasteur (l'extrémité épaisse de 6 mm de diamètre) sur la surface du milieu de culture Muller-Hinton gélosé,ensemencé avec les souches bactériennes et les boîtes qui contient le milieu Sabouraud inoculées (Prescott *et al.*, 2003). Le fond des puits est obturé avec une goutte de gélose de Muller Hinton et du milieu de culture Sabouraud pour levure et bactéries.

Un volume de 25 μ l du surnageant et des extraits de cyanobactéries préparés par les différents solvants (méthanol, éthanol, acétone et éther diétyl) est introduit dans les puits correspondant à chaque souche de cyanobactérie.

L'incubation des boîtes s'effectue à une température de 37°C et 30°C pendant 24 heures et 72 heures pour les bactéries et les levures respectivement. La lecture de l'activité antagoniste est évaluée par mesure du diamètre de la zone d'inhibition formée.

12. Caractérisation des pigments photosynthétiques produites chez une souche de cyanobactérie isolée, sélectionnée antagoniste

Généralement, les molécules responsables de l'activité antibactérienne et antifongique produites chez les cyanobactéries vis-à-vis de certaines souches pathogènes sont des pigments fluorescents, des composés phénoliques, des amides, des alcaloïdes et de nombreux composés (Bharat *et al.*, 2013).

Yamazaki *et ses collaborateurs* (2004) ont rapporté que les pigments photosynthétiques des cyanobactéries ont exercé un effet inhibiteur sur la croissance de certaines souches responsables des infections urinaires.

La caractérisation des pigments photosynthétiques fluorescents, produites chez la souche de cyanobactérie isolée, sélectionnée antagoniste est mise en évidence par l'utilisation de l'appareil HPLC. Les résultats obtenus ont montré que la souche *A.spherica* a manifesté une importante activité antagoniste, avec un pouvoir d'inhibition de (80%) vis-à-vis de certaines souches bactériennes et fongiques responsables d'infections nosocomiales.

12.1. Recherche des pigments fluorescents

12.1.1. Recherche de la chlorophylle

Un volume de 50 ml de l'échantillon est soumis à une filtration avec un filtre GFC. Les filtres sont ensuite introduits dans un tube contenant le solvant d'extraction (Méthanol/acétate d'ammonium 0.5 M (98/2, v/v) et soumis à des ultrasons. Les tubes sont ensuite centrifugés, le surnageant est récupéré, filtré à travers un filtre seringue afin de permettre l'élimination des impuretés (Jeffrey *et al.*, 1997).

HPLC-DAD

L'extrait est analysé par HPLC-DAD, sur une chaîne Waters avec un passeur d'échantillons. Un volume de 100 µl est injecté, élué pendant 30 minutes par l'utilisation d'un gradient d'élution, contenant trois solutions d'élutions (Méthanol/0,5M acétate d'ammonium (80/20), acétonitrile/eau (90/10) ; éthyle acétate). La molécule de la chlorophylle est identifiée en fonction du temps de rétention et son spectre d'absorption spécifique (Jeffrey *et al.*, 1997).

L'appareil Hewlett Packard (série 1500) est utilisé pour la caractérisation et la détermination de la concentration de la chlorophylle et l'identification est effectuée par l'utilisation du logiciel Azure (version 4.6.0.0).



Figure 20 : Présentation de l'appareil d'HPLC, équipé avec un détecteur à barrettes de type diodes (Hewlett Packard, série 1500).

12.1.2. Recherche des pigments solubles organiques

Les extraits des cyanobactéries sont analysés par HPLC, équipé d'une pompe (water, W600), d'un injecteur (water, W717), d'un détecteur PDA (water, W486) et d'une colonne analytique phenomenex Luna C18(2) 250 mm× 4.6 mm, 10 μ m). Le PDA permet de détecter les molécules absorbant pour une longueur d'onde comprise entre 190 et 600 nm. Cette méthode permet de mesurer la concentration des différents pigments solubles organiques xanthophylle. Le volume d'injection est de 50 μ l.



Figure 21 : Présentation de l'appareil d'HPLC (Shimadzu -20A).

L'appareil utilisé pour la caractérisation et la détermination de la concentration des pigments solubles organiques xanthophylle est Shimadzu-20A, équipé d'une pompe de chromatographie liquide à haute pression (UC-grade AD). Les analyses sont réalisées en phase inverse avec une colonne C18. La température d'élution est maintenue à 25°C et le volume injecté est de 10 μ l avec un débit de 0.4 ml/min. L'identification des pigments solubles organiques xanthophylles s'effectue grâce aux étalons (commerciaux). L'étude des spectres des pics est réalisé par comparaison avec les chromatogrammes disponibles dans la littérature (Mantoura et Llewelyn, 1983 ; Repeta et Gagosian, 1983; Sartory, 1985; Keely et Brereton, 1986; Vernet et Lorenzen, 1987 ; Furlong et Carpenter, 1988 ; Hurley et Armstrong, 1990 ; Leavitt et Carpenter, 1990 ; Abele-Æschger, 1991; King et Repeta, 1991; Klein et Riaux-Gobin, 1991; Wright et al., 1991; Kraay et al., 1992; Bianchi et al., 1993).

Résultats

1. Caractéristiques physico chimiques des échantillons prélevés

Les résultats des analyses des paramètres physico-chimiques du lac SMB et du barrage Sarno sont récapitulés dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : Etude comparative des analyses physico-chimiques des échantillons d'eaux douces, prélevées à partir du lac SMB et du barrage Sarno.

Paramètres	Lac SMB	Barrage Sarno
T (°C)	19.5 ± 0.98	15.25 ± 0.49
pH	7 ± 0	7,45 ± 0.10
Conductivité	2184 ± 11.76	1584 ± 9.80
Profondeur du disque de Secchi (cm)	126 ± 1.96	148 ± 3.92
NH ₄ (mg/L)	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.01
NO ₃ (mg/L)	1.95 ± 0.10	0.93 ± 0.02
NO ₂ (mg/L)	0.13 ± 0.01	0.09 ± 0.01

La température mesurée des eaux douces du barrage Sarno et du lac SMB est inférieure à la température optimale de la croissance des cyanobactéries. Cependant, la valeur du pH analysée des deux sites est favorable à la prolifération des cyanobactéries. La conductivité du lac SMB est supérieure à celle du barrage Sarno, ce qui explique que les eaux douces du lac SMB contiennent une importante quantité des ions par rapport aux eaux du barrage Sarno. La zone euphotique est de 126 ± 1.96 cm pour le barrage Sarno et de 148 ± 3.92 cm pour le lac SMB, ce qui traduit que les eaux du lac contiennent de nombreuses particules et de molécules en suspension par rapport aux eaux du barrage Sarno, ce qui diminue considérablement la transparence de l'eau. Les valeurs *des ions d'ammonium* mesurées ont indiqué l'absence de variations importantes au niveau du lac SMB et du barrage Sarno.

La présence du nitrate (NO₃), et du nitrite (NO₂) sous la forme inorganique de l'azote présentent des nutriments essentiels à la croissance et à la reproduction des micro-algues notamment les cyanobactéries. Le taux de nitrate et le taux de nitrite présents dans les eaux douces du lac SMB sont favorables à la croissance des cyanobactéries par rapport à celle du barrage Sarno.

2. Identification des cyanobactéries

2.1. Identification macroscopique des espèces de cyanobactéries

L'ensemencement des échantillons d'eaux du lac SMB et du barrage Sarno effectué sur le milieu de culture solide BG11 et les repiquages successifs ont permis l'isolement de quelques espèces de cyanobactéries, dont l'aspect des colonies est très variable selon les espèces (**Figure 22**).

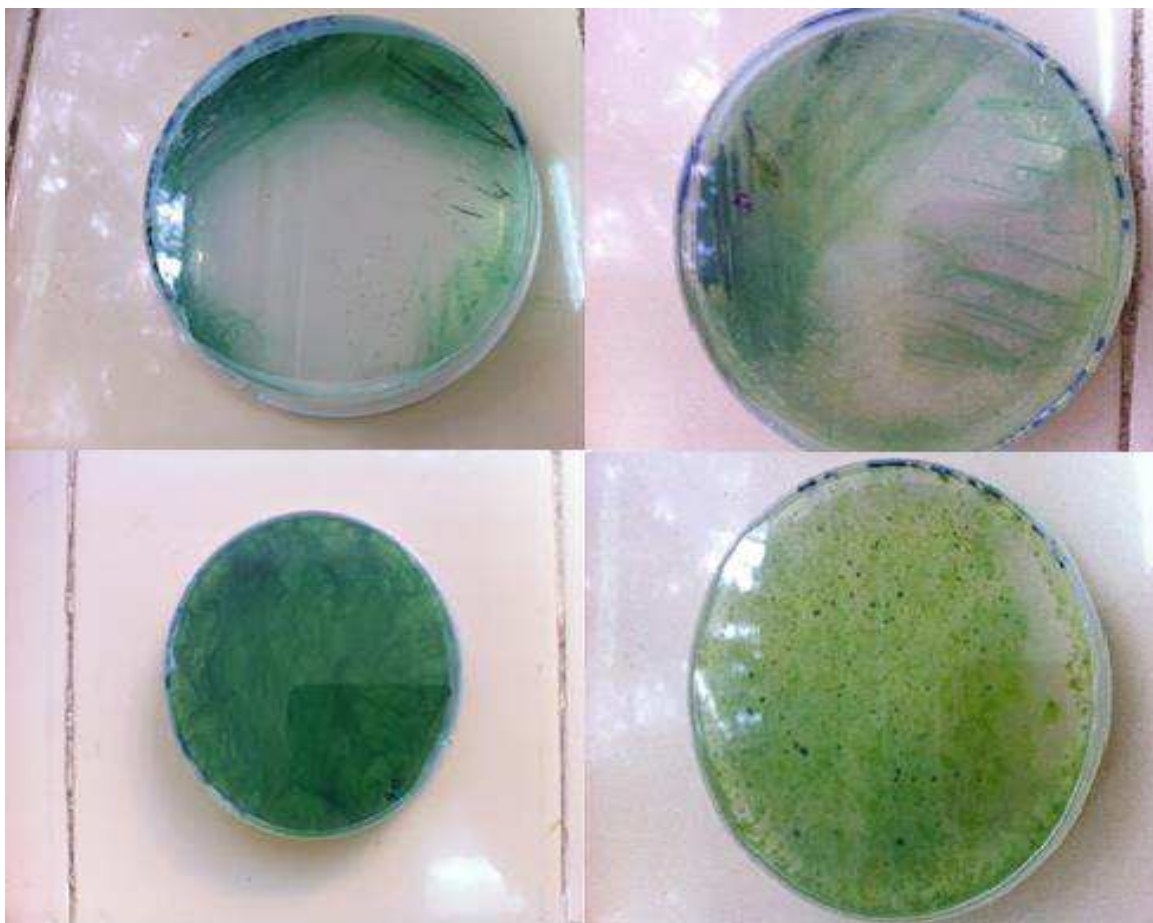


Figure 22 : Aspect macroscopique des cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens.

2.2. Identification microscopique des espèces de cyanobactéries

L'observation microscopique et l'étude des caractères morphologiques des cyanobactéries isolées ont permis l'identification des genres suivants : *Anabeana*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *lyngbya*. Ces espèces appartiennent à deux familles de cyanobactéries, les Oscillatoriaceae et les Nostocaceae. Les repiquages successifs effectués sur le milieu de culture gélosé BG 11 ont permis l'identification de quatre espèces des cyanobactéries (**Tableau 5**).

Résultats

Tableau 5 : Présentation et identification des espèces appartenant à la famille de cyanobactéries, isolées à partir du lac SMB et du barrage Sarno.

Souches	Espèces	Familles	Lieu d'isolement
S1	<i>Oscillatoria sp</i>	Oscillatoriaceae	Lac SMB Barrage Sarno
S2	<i>Lyngbya sp</i>	Oscillatoriaceae	Lac SMB
S3	<i>Phormidium sp</i>	Oscillatoriaceae	Lac SMB
S4	<i>Anabeana spherica</i>	Nostocaceae	Lac SMB

La coloration de Gram effectué et l'observation microscopique avec un grossissement (G×100) ont permis l'identification des caractères des cyanobactéries isolées, sélectionnées antagonistes :

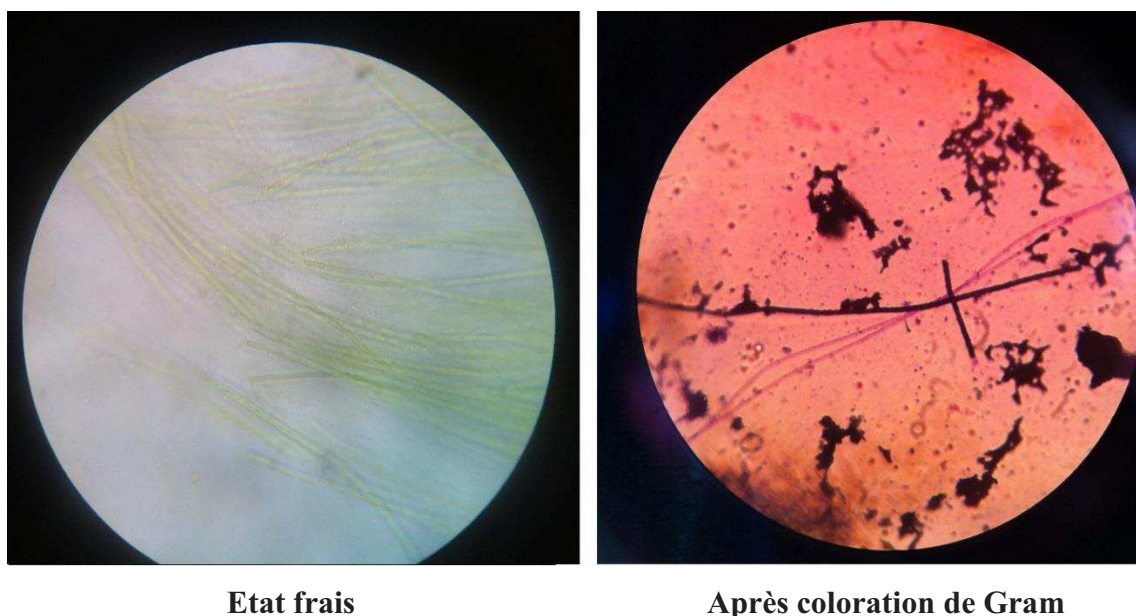


Figure 23 : Observation microscopique d'*Oscillatoria sp*, isolée du barrage Sarno, inoculée sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens (Gx100).

S1 : L'isolat est un organisme filamenteux à Gram négatif, avec un contenu granulaire, unisérie, non ramifié, ne possède pas une gaine, constitué seulement de cellules végétatives. Trichome légèrement enroulé et apparaisse comme des rubans denses, les cellules ont une forme de disque et ne sont pas séparés par des constriction.



Etat frais

Après coloration de Gram

Figure 24 : Observation microscopique de *Lyngbya sp.*, isolée du lac SMB, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25°C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens (Gx100).

S2 : L'isolat se présente sous forme d'un filament à Gram négatif, unisérie, non ramifié, avec gaine mucilagineuse, et un trichome droit. Absence d'akinètes et d'hétérocystes, cette souche a les mêmes caractéristiques d'*Oscillatoria sp.*, la différence entre eux c'est qu'elle est enfermée dans une gaine au-delà du filament.



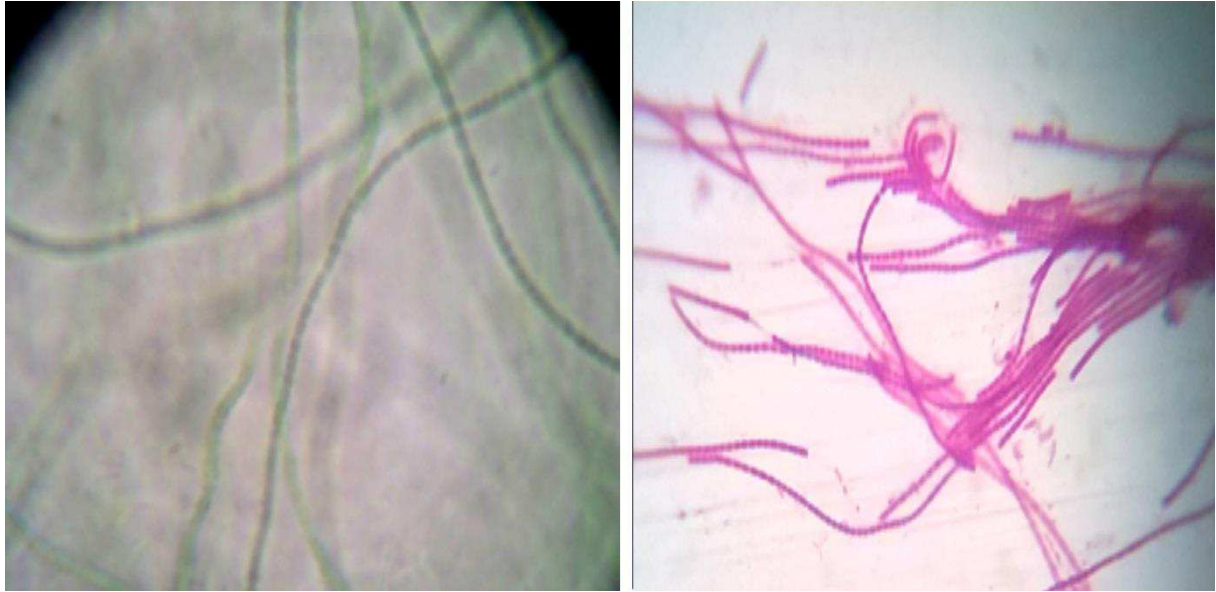
Etat frais

Après coloration de Gram

Figure 25 : Observation microscopique de *Phormidium sp.*, isolée du lac SMB, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens (Gx100).

S3 : L'isolat est un organisme filamenteux à Gram négatif, unisérie, non ramifié, avec gaine mucilagineuse, constitué seulement de cellules végétatives, trichome droit. Les cellules apicales sont coniques obtuse à son sommet. Cette souche possède les mêmes caractéristiques de *Lyngbya sp.*, mais ils se différencient par la forme des cellules végétatives terminales et par la culture sur le milieu de culture solide.

Résultats



Etat frais

Après coloration de Gram

Figure 26 : Observation microscopique d'*Anabeana spherica*, isolée du lac SMB, inoculées sur le milieu de culture BG11, incubées à une température de 25 °C et en présence d'une intensité lumineuse de 2000 lumens (Gx100).

S4 : L'isolat est de forme filamenteuse à Gram négatif, trichome droit. Les cellules végétatives sont de forme sphérique, le filament apparaît comme un collier de perle, constriction marquée au niveau des cloisons.

Après la purification des souches de cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno, chaque colonie estensemencée dans des Erlenmeyers contenant 150 ml du milieu de culture BG11 liquide (**Figure 27**).



Figure 27 : La culture des cyanobactéries, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno, inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens.

3. L'activité antimicrobienne des substances intracellulaires et extracellulaires des cyanobactéries

Le screening des substances extraites de cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno est mis en évidence vis-à-vis de certaines souches pathogènes responsables des infections nosocomiales. A cet effet, les extraits des cyanobactéries récupérés par extraction avec différents solvants organiques (méthanol, éthanol, acétone et éther diéthylique) sont testés vis-à-vis de 2 souches bactériennes à Gram positif telles que *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterobacter aerogenes* ATCC 35029, 5 souches à Gram négatif telles que *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 6896 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, une souche levulaire; *Candida albicans* ATCC 20408, et les champignons filamenteux tels que *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aspergillus flavus* ATCC 10124. Les résultats obtenus ont montré une importante activité antagoniste des extraits de quatre cyanobactéries vis-à-vis les bactéries, la levure et des champignons filamenteux testées.

3.1. L'activité antimicrobienne des substances extracellulaires des cyanobactéries

3.1.1. L'activité antibactérienne des surnageants des cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne des cyanobactéries, isolées des eaux douces, avec l'utilisation de la pénicilline comme témoin positif (+) et le DMSO comme témoin négatif (-), sont résumées dans le **Tableau 6**.

Résultats

Tableau 6 : L'étude de la moyenne de l'activité antibactérienne de surnageant des cyanobactéries vis-à-vis de certaines souches pathogènes par mesure du diamètre de la zone d'inhibition (mm).

<i>Souches de cyanobactéries</i>	<i>E.coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>K. pneumoniae</i>
<i>Oscillatoria sp</i>	5 ± 0	R	R	R	R	R	7 ± 1.06
<i>Lyngbya sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
<i>Phormidium sp</i>	R	R	2 ± 0.35	R	R	R	5 ± 0
<i>Anabeana spherica</i>	R	R	2 ± 0.7	R	R	R	R

(R) : Résistance

Seuil minimum d'inhibition : 3mm

Les résultats obtenus ont montré que les substances extracellulaires, présentes dans le surnageant de la culture d'*Oscillatoria sp* ont manifesté une faible activité inhibitrice vis-à-vis de *K.pneumoniae* et d'*E.coli* avec des diamètres de zones d'inhibitions de (7 ± 1.06, 5 ± 0 mm) respectivement. De même, les molécules présentes dans le surnageant de la culture de *Phormidium sp* ont montré une faible activité antagoniste vis-à-vis de *K.pneumoniae*, avec un diamètre de la zone d'inhibition de 5 ± 0 mm.

Par ailleurs, les substances présentes dans le surnageant des cultures *Lyngbya sp* et *Anabeana spherica* ont révélé aucune activité antagoniste vis-à-vis des souches responsables des infections nosocomiales testées.

3.1.2. L'activité antifongique des surnageants des cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne des cyanobactéries, isolées des eaux douces, avec utilisation de la nistatine comme témoin positif (+) et le DMSO comme témoin négatif (-), sont résumées dans le **Tableau 7**.

Résultats

Tableau 7 : L'étude de l'activité antifongique de surnageant des cyanobactéries par mesure du diamètre de la zone d'inhibition (mm).

<i>Souches de cyanobactéries</i>	<i>A.niger</i>	<i>A.flavus</i>	<i>C.albicans</i>
<i>Oscillatoria sp</i>	R	R	R
<i>Lyngbya sp</i>	R	R	R
<i>Phormidium sp</i>	R	R	R
<i>Anabeana spherica</i>	R	R	2 ± 0

(R) : Résistance

Les résultats obtenus ont montré que les substances présentes dans le surnageant des cultures de cyanobactéries ont révélé aucune activité antagoniste vis-à-vis les souches fongiques testées.

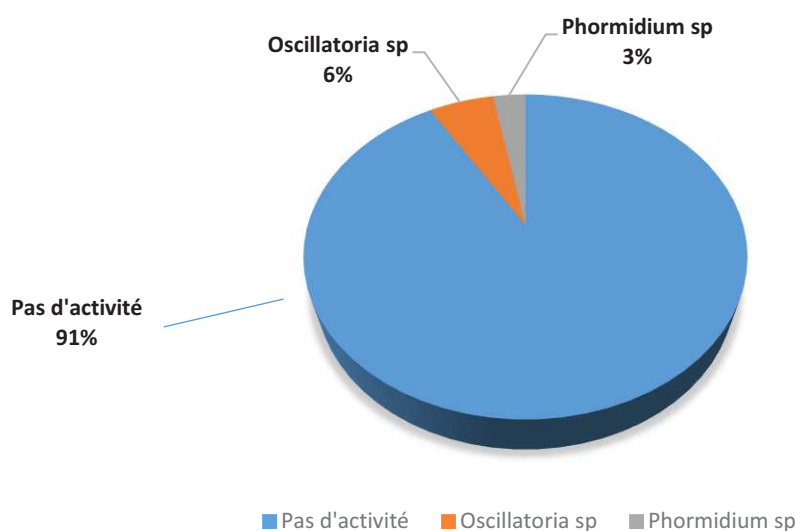


Figure 28 : Prévalence de l'activité antimicrobienne du surnageant des cyanobactéries, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens.

Résultats

3.2. L'activité antimicrobienne des substances intracellulaires élaborées par les cyanobactéries

3.2.1. L'activité antibactérienne des extraits des cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne des cyanobactéries, isolées des eaux douces, avec utilisation de la pénicilline comme témoin positif (+) et le DMSO comme témoin négatif (-), sont résumées dans le **Tableau 8**.

Tableau 8 : L'étude de la moyenne de l'activité antibactérienne des extraits de cyanobactéries par mesure du diamètre de la zone d'inhibition (mm).

Souches de cyanobactéries	Solvant	<i>E.coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>K. pneumonia</i>
<i>Oscillatoria sp</i>	Méthanol	R	2.5 ± 0.98	2 ± 0	35.25± 2.45	3.5 ± 0.98	2.75 ± 0.49	33 ± 1.97
	Ethanol	R	6.75 ± 0.49	9 ± 0.98	8.5 ± 0.98	R	R	8.75 ± 1.47
	Acétone	R	1.5 ± 0.98	2 ± 0.98	2.5 ± 0.98	29 ± 1.98	2 ± 0	2 ± 0
	Ether diéthylique	R	R	R	R	R	R	R
<i>Lyngbya sp</i>	Méthanol	2 ± 0	6 ± 1.96	4.5 ± 0.98	3.75 ± 0.49	5 ± 0.98	6 ± 0	16 ± 0.98
	Ethanol	1.75 ± 0.49	5 ± 0	8 ± 1.96	7 ± 1.96	6.75 ± 0.49	4 ± 0.98	4 ± 0.98
	Acétone	R	4 ± 0.98	3.5 ± 0.98	2.75 ± 1.47	R	R	R
	Ether diéthylique	R	1.75 ± 0.49	2 ± 0.98	3 ± 0.98	R	2.75 ± 0.49	R
<i>Phormidium sp</i>	Méthanol	R	4 ± 0.98	4 ± 0.98	R	R	R	6.75 ± 1.47
	Ethanol	R	2 ± 0.98	5.75± 0.49	R	5 ± 0.98	3.75 ± 0.49	R
	Acétone	R	1.75 ± 0.49	3 ± 0.49	27.5 ± 0.98	R	25.5 ± 0.98	21.5 ± 0.98
	Ether diéthylique	R	15.5 ± 0.98	2 ± 0.98	3.75 ± 0.49	R	R	9.25 ± 0.49
<i>Anabeana spherica</i>	Méthanol	10 ± 1.96	6.25 ± 0.49	7.75 ± 1.47	15 ± 1.98	9 ± 0.98	7 ± 0.98	2.75 ± 0.49
	Ethanol	2.25 ± 0.49	3.5 ± 0.98	4 ± 0.98	6.75 ± 1.47	8.25 ± 0.49	7.25 ± 0.49	7 ± 1.96
	Acétone	1.5 ± 0.98	3.5 ± 0.98	5 ± 0.98	R	R	R	R
	Ether diéthylique	R	R	R	R	R	R	R

(R) : Résistance Seuil minimum d'inhibition : 3mm

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne illustrés dans le tableau 6 ont montré clairement que les valeurs maximales des diamètres des zones d'inhibitions formés sont de l'ordre de 29 ± 1.98 mm à 35.25 ± 2.45 mm. L'utilisation de l'extrait méthanoïque d'*Oscillatoria sp.* a montré une importante activité antagoniste vis-à-vis de *S.aureus* et de

Résultats

K.pneumoniae, avec des diamètres des zones d'inhibition de (35.25 ± 2.45 , 33 ± 1.97 mm) respectivement. Par ailleurs, l'utilisation de l'extrait éthanolique a manifesté une moyenne activité antagoniste vis-à-vis de *Ps.aeruginosa* (9 ± 0.98 mm), *S.aureus* (8.5 ± 0.98 mm) à l'exception d' *E.coli*, *E. aerogenes*, et *P.vulgaris*.

L'utilisation des extraits méthanoliques de *Lyngbya sp* a révélé une importante activité antagoniste vis-à-vis *K.pneumoniae*, avec un diamètre de zone d'inhibition de (16 ± 0.98 mm). Cependant, l'utilisation des extraits méthanoliques d'*anabeana spherica* a montré une importante activité antagoniste vis-à-vis de *S.aureus*, *E.coli* et *E.aerogenes*, avec des diamètres des zones d'inhibition de (15 ± 1.98 , 10 ± 1.96 , 9 ± 0.98 mm) respectivement. Cependant, l'utilisation des extraits acétoniques d'*anabeana spherica* a montré une faible activité antagoniste vis-à-vis de *Ps.aeruginosa* (5 ± 0.98 mm).

L'utilisation des extraits acétonique de *Phormidium sp* a révélé une forte activité antagoniste vis-à-vis de *S.aureus*, *P.vulgais* et *K.pneumoniae*, avec des diamètres des zones d'inhibition de (27.5 ± 0.98 , 25.5 ± 0.98 , 21.5 ± 0.98 mm) respectivement. Par ailleurs, les extraits d'éther diéthylique de *Phormidium sp* ont montré une moyenne activité antagoniste vis-à-vis de *S.typhimurium* (15 ± 0.98 mm) et *K.pneumoniae* (9.25 ± 0.49 mm).

3.2.2. L'activité antifongique des extraits des cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno

Les résultats obtenus de l'activité antifongique des cyanobactéries, isolées des eaux douces, avec l'utilisation de la nistaine comme témoin positif (+) et le DMSO comme témoin négatif (-), sont résumées dans le **Tableau 9**.

Résultats

Tableau 9 : L'étude de la moyenne de l'activité antifongique des extraits de cyanobactéries par mesure du diamètre de la zone d'inhibition (mm).

<i>Souches de cyanobactéries</i>	<i>Solvant</i>	<i>A.niger</i>	<i>A.flavus</i>	<i>C.albicans</i>
<i>Oscillatoria sp</i>	Méthanol	18 ± 0.98	R	2.5 ± 0.35
	Ethanol	R	R	R
	Acétone	R	1.75 ± 0	R
	Ether diéthylique	5.5 ± 0.98	R	3 ± 0.98
<i>Lyngbya sp</i>	Méthanol	2.75 ± 0.49	R	R
	Ethanol	R	R	R
	Acétone	R	1.75 ± 0.49	3.5 ± 0.98
	Ether diéthylique	R	R	45 ± 2.45
<i>Phormidium sp</i>	Méthanol	2.5 ± 0.98	R	R
	Ethanol	R	R	R
	Acétone	R	2.25 ± 0.49	5.75 ± 1.47
	Ether diéthylique	R	R	40 ± 1.47
<i>Anabeana spherica</i>	Méthanol	3 ± 0.98	R	R
	Ethanol	R	R	R
	Acétone	R	3.5 ± 0	R
	Ether diéthylique	R	5.25 ± 1.47	R

(R) : Résistance

Seuil minimum d'inhibition : 3mm

Les résultats obtenus de l'activité antifongique des extraits de cyanobactéries illustrés dans le tableau 7 ont montré clairement que les valeurs maximales de diamètres des zones d'inhibitions formés sont de l'ordre de 40 ± 1.47 à 45 ± 2.45 mm. L'utilisation des extraits d'éther diéthylique de *Lyngbya sp*, et de *Phormidium sp* a montré une excellente activité antagoniste vis-à-vis de *C.albicans*, avec les diamètres des zones d'inhibition de (45 ± 2.45, 40 ± 1.47 mm) respectivement. Cependant, l'utilisation des extraits méthanolique d'*Oscillatoria sp* a manifesté une importante activité antagoniste vis-à-vis de *A.niger*, avec la formation d'une zone d'inhibition de 18 ± 0.98 mm. A l'opposé, *A.flavus* et *C.albicans* ont montré une résistance aux extraits acétoniques des cyanobactéries, sauf dans la case de *C.albicans* où une faible activité est remarquée par l'extrait acétonique de *Phormidium sp*.

3.3. Prévalence de l'activité des substances bioactives des cyanobactéries

Le screening réalisé sur l'étude de l'activité antagoniste a suggéré que les cyanobactéries ont manifesté un grand pouvoir de production de molécules antimicrobiennes. La prévalence de l'activité antibactérienne des substances extraites des cyanobactéries est illustrée dans la **(Figure 29)**.

D'une manière générale, les souches isolées, sélectionnées antagonistes *A.spherica*, *Oscillatoria sp*, *Phormidium sp* et *Lyngbya* ont présenté une excellente activité antagoniste vis-à-vis de souches pathogènes responsables des infections nosocomiales, avec les pourcentages de (80, 70, 70, 60 %) respectivement.

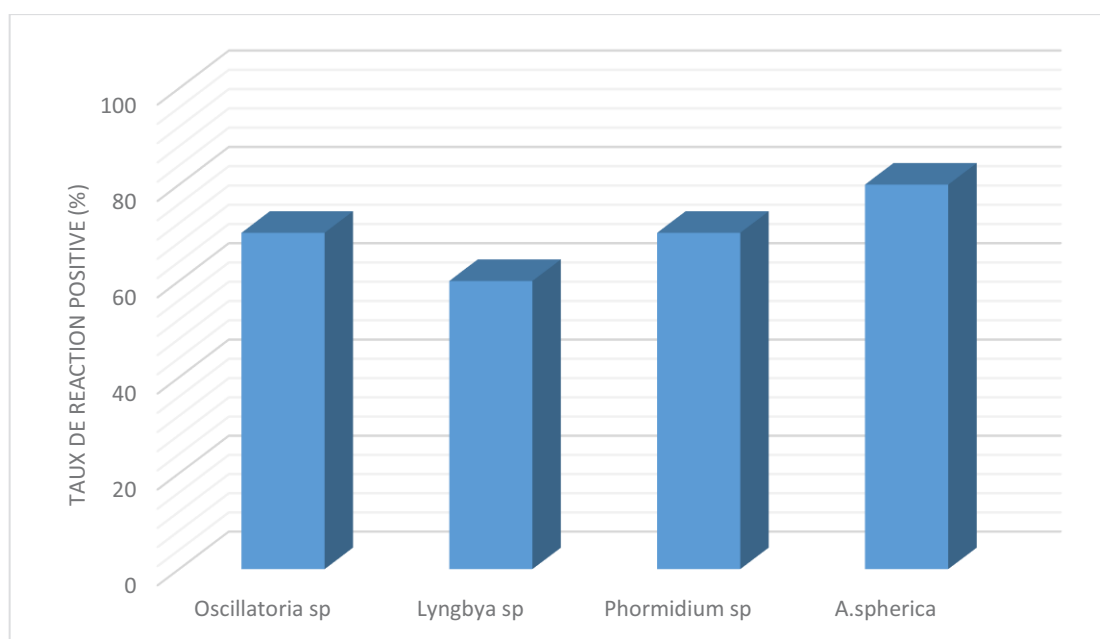


Figure 29 : Prévalence de l'activité antibactérienne des substances extraites des cyanobactéries.

3.4. L'étude de l'activité antimicrobienne des substances extraites des cyanobactéries

L'étude de l'activité antibactérienne des substances extraites des cyanobactéries, isolées du lac SMB et du barrage Sarno est mis en évidence vis-à-vis de certaines souches pathogènes responsables des infections nosocomiales. Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne illustrés dans la **Figure 30** ont montré une excellente activité antagoniste des substances extraites des cyanobactéries vis-à-vis de souches pathogènes testées, avec un taux d'inhibition de 100 % vis-à-vis les souches *Ps.aeruginosa*, *Pr.vulgaris*, *K.pneumoniae*, *St. aureus*, *E.aerogenes* et de 75 % vis-à-vis *S.typhimurium*. Par ailleurs, les extraits de *Lyngbya sp.* et de *phormidium sp* ont manifesté un taux d'inhibition de 50 % vis-à-vis *Candida albicans*

Résultats

Escherichia coli, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus* ont présenté un taux d'inhibition de 25 % de sensibilité seulement (**Figure 22**).

En outre, les champignons filamenteux et la levure ont manifesté une forte résistance vis-à-vis des extraits de *Lyngbya sp.* et *phormidium sp.*

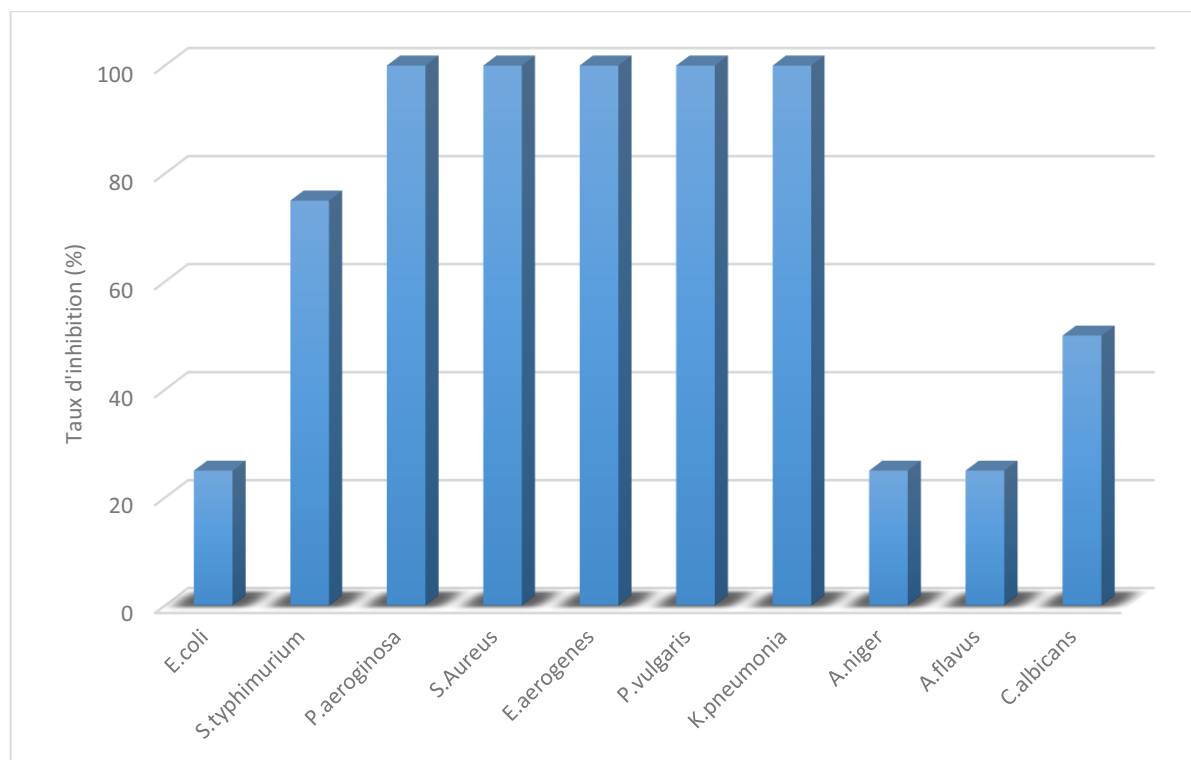


Figure 30 : L'étude de l'activité antibactérienne des substances extraites des cyanobactéries, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches pathogènes.

3.5. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits d'*Oscillatoria sp*

L'étude de l'activité antibactérienne des substances extraites d'*Oscillatoria sp*, est mise en évidence vis-à-vis de certaines souches pathogènes responsables des infections nosocomiales. Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne illustrés dans la **Figure 31** ont montré que les extraits méthanoliques, acétoniques d'*Oscillatoria sp* ont manifesté une excellente activité antagoniste vis-à-vis de certaines souches pathogènes testées. Par ailleurs les extraits d'éther diéthylique ont manifesté aucune activité antagoniste. Cependant, les extraits éthanoliques ont révélé une activité antagoniste moyenne vis-à-vis de souches pathogènes testée à l'exception d'*E.coli*, *E.aerogenes* et *P.vulgaris*, qui se manifestent très résistantes aux extraits d'*Oscillatoria sp* testés.

Résultats

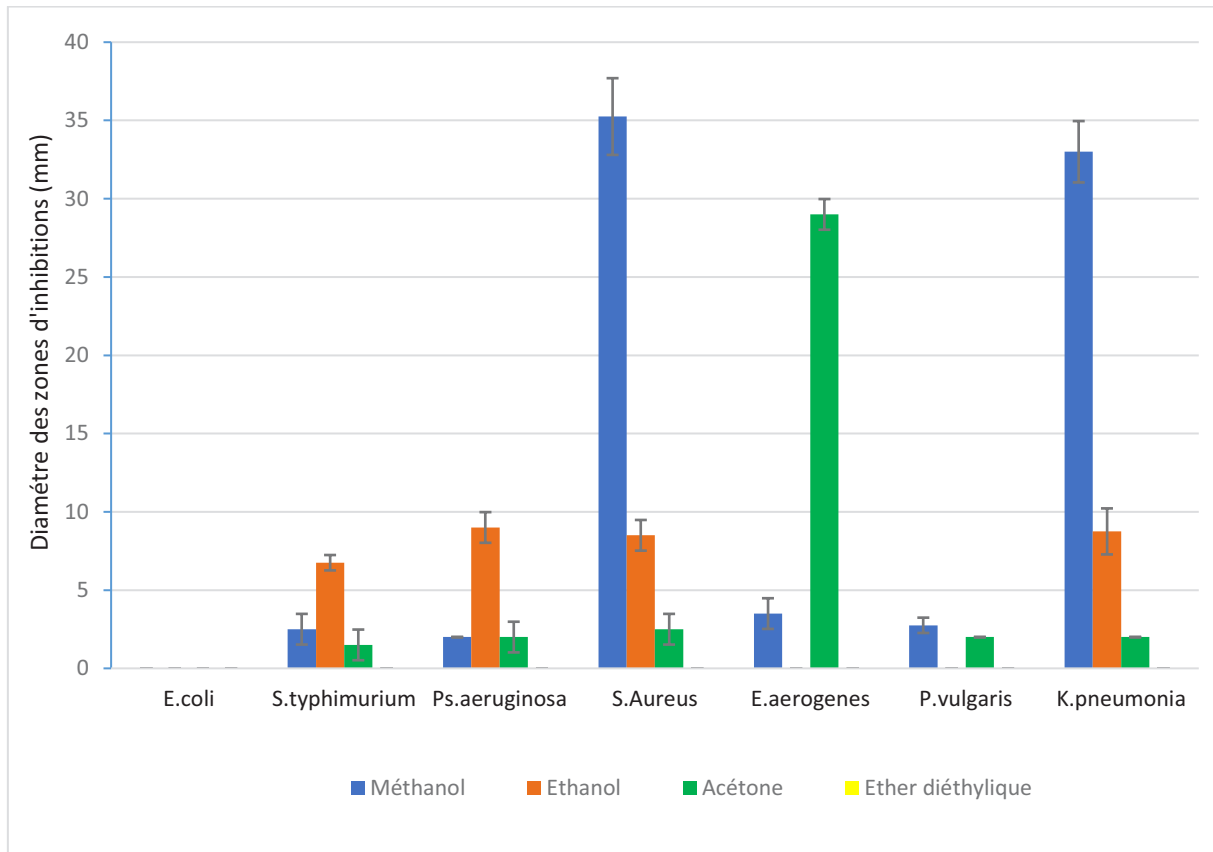


Figure 31 : L'étude de l'activité antibactérienne des extraits d'*Oscillatoria sp*, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches pathogènes.

3.6. L'étude de l'activité antifongique des extraits d'*Oscillatoria sp*

L'étude de l'activité antifongique des substances extraites d'*Oscillatoria sp*, est mise en évidence vis-à-vis de champignons filamenteux et la levure. Les résultats obtenus de l'activité antifongique illustrés dans la **Figure 32** ont montré que l'extrait méthanolique d'*Oscillatoria sp* a manifesté une excellente activité antagoniste vis-à-vis d'*Aspergillus niger*. Par ailleurs, *Aspergillus flavus* et *Candida albicans* ont montré une forte résistance aux extraits d'*Oscillatoria sp*.

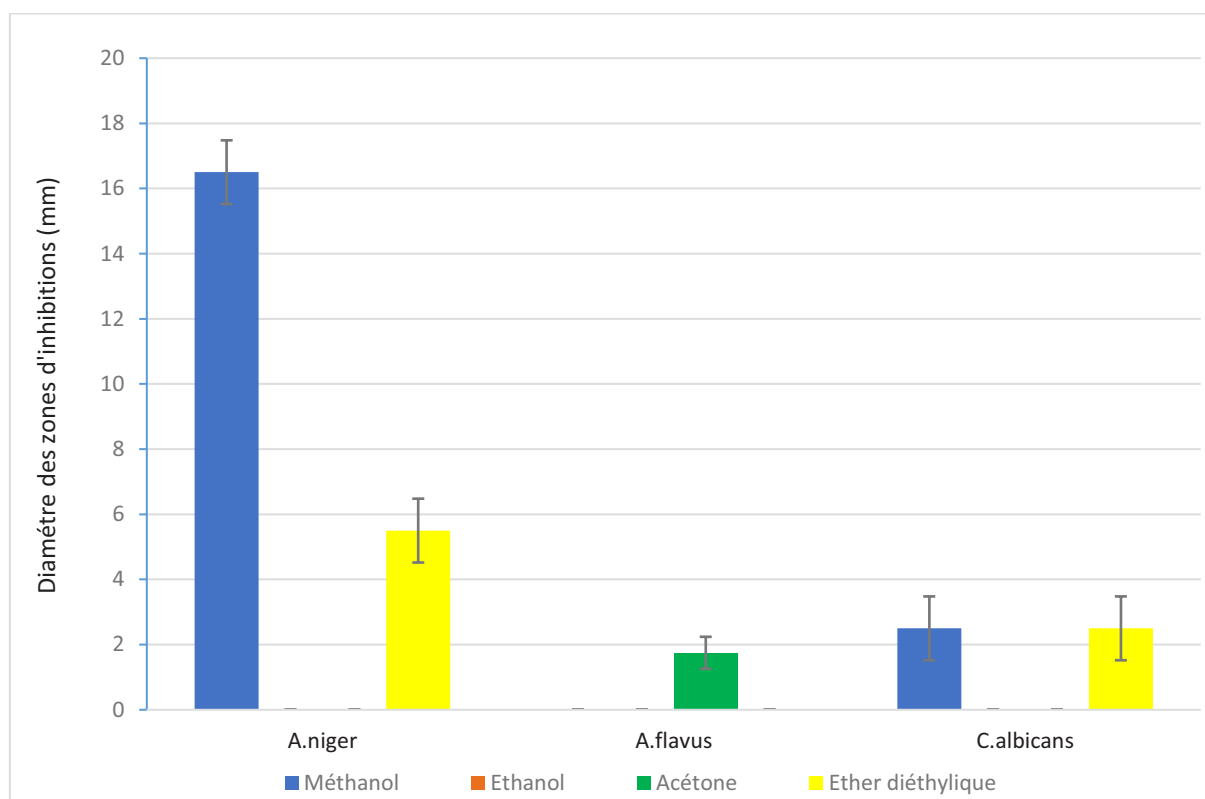


Figure 32 : L'étude de l'activité antifongique des extraits d'*Oscillatoria sp.*, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes.

3.7. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits de *Lyngbya sp.*

L'étude de l'activité antibactérienne des substances extraites de *Lyngbya sp.*, est mise en évidence vis-à-vis de certaines souches pathogènes responsables des infections nosocomiales. Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne illustrés dans la **Figure 33** ont montré que les extraits méthanoliques de *Lyngbya sp.* ont manifesté une excellente activité antagoniste vis-à-vis *K.pneumonia*. Par ailleurs, les extraits éthanoliques de *Lyngbya sp.* ont présenté une faible activité antagoniste vis-à-vis les souches pathogènes responsables des infections nosocomiales testés. A l'opposé, les extraits d'éther diéthylique de *Lyngbya sp.* ont manifesté aucune inhibition de la prolifération des germes testés. Les extraits acétoniques de *Lyngbya sp.* ont exercé une très faible activité inhibitrice de croissance contre *s.typhimurium*, *P.aeruginosa* et *S.aureus*

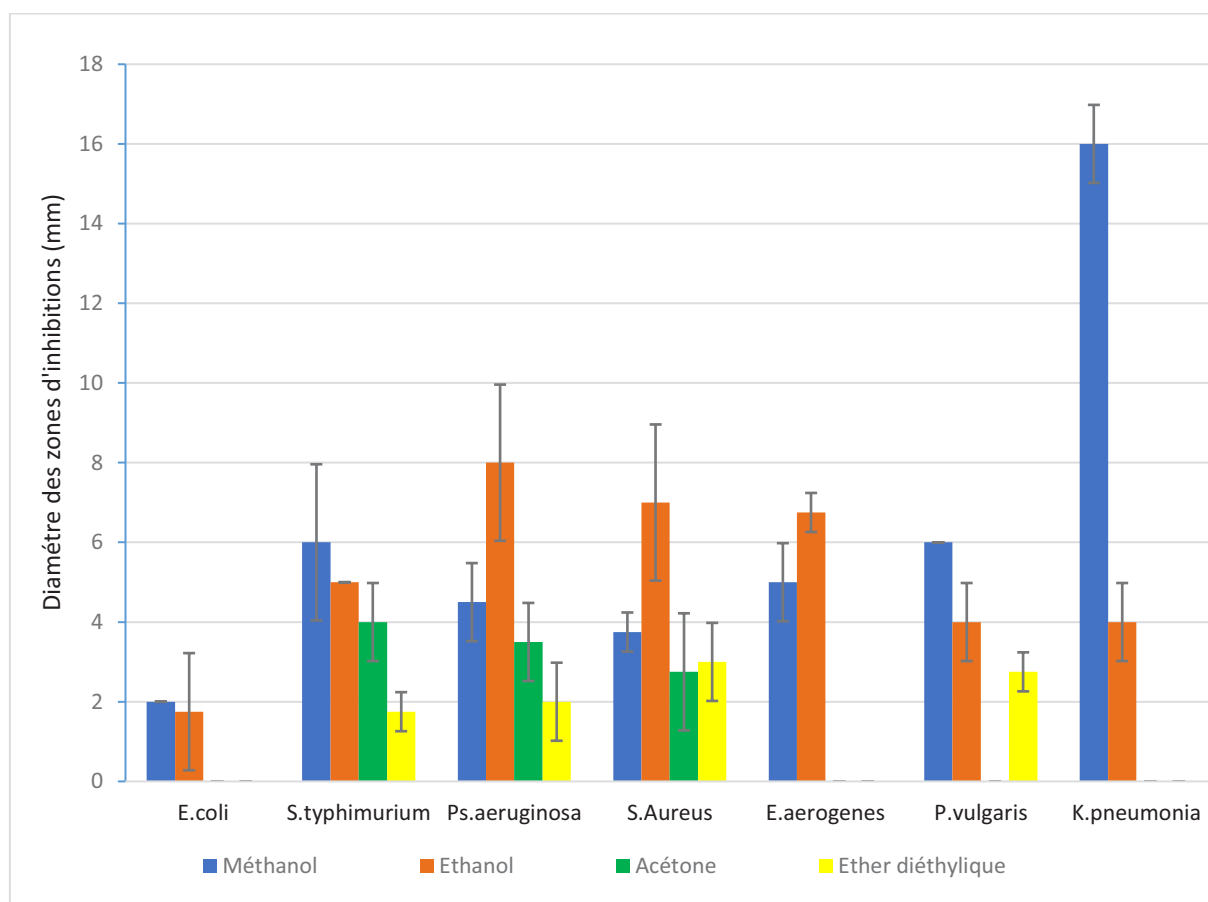


Figure 33 : L'étude de l'activité antibactérienne extraits de *Lyngbya sp*, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes.

3.8. L'étude de l'activité antifongique des extraits de *Lyngbya sp*

L'étude de l'activité antifongique des substances extraites de *Lyngbya sp*, est mise en évidence vis-à-vis de champignons filamenteux et la levure. Les résultats obtenus de l'activité antifongique illustrés dans la **Figure 34** ont montré que l'extrait éther diéthylique de *Lyngbya sp* a manifesté une excellente activité antagoniste vis-à-vis *Candida albicans*. A l'opposé *A.niger* et *A.flavus* ont montré une forte résistance contre ces extraits. Les extraits acétoniques de *Lyngbya sp* ont présenté une faible activité antagoniste vis-à-vis de champignons filamenteux et la levure testées.

Résultats

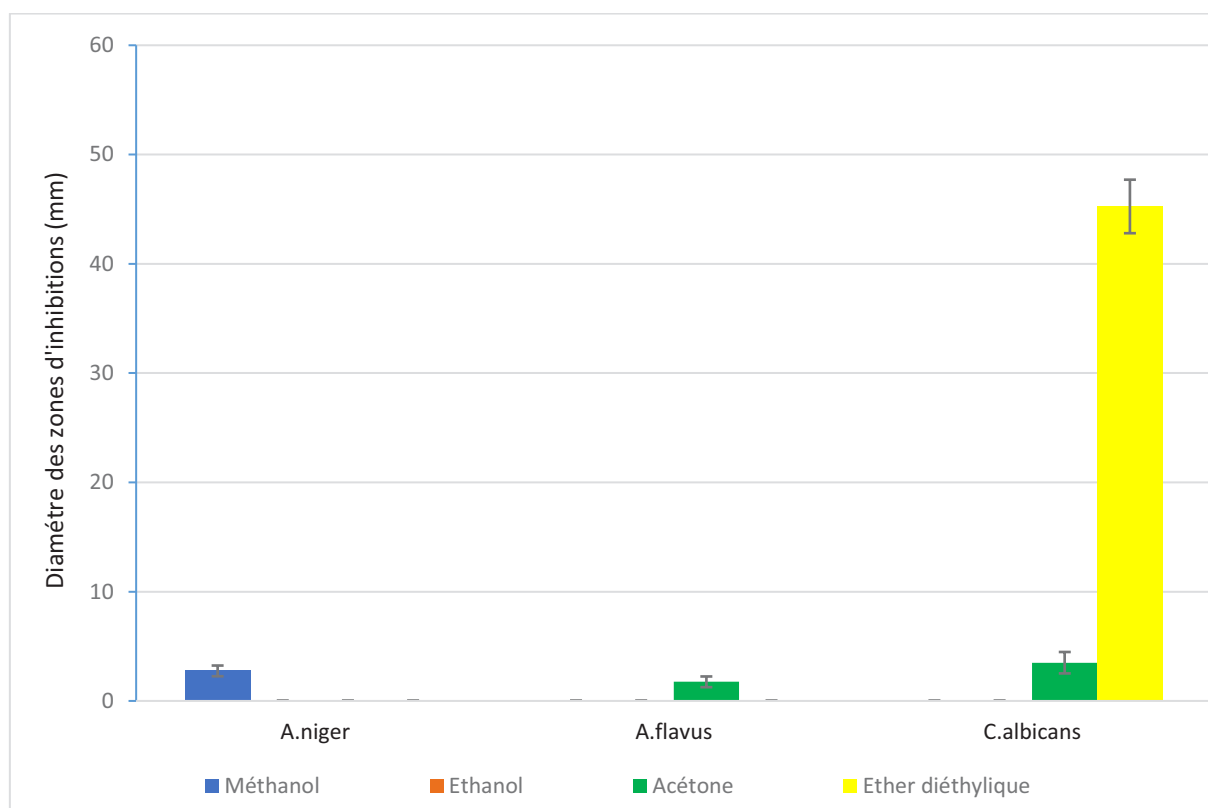


Figure 34 : L'étude de l'activité antifongique extraits de *Lyngbya sp*, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes.

3.9. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits de *Phormidium sp*

L'étude de l'activité antibactérienne des substances extraites de *Phormidium sp*, est mise en évidence vis-à-vis de certaines souches pathogènes responsables des infections nosocomiales. Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne illustrés dans la **Figure 35** ont montré que les extraits acétoniques de *Phormidium sp* ont manifesté une excellente activité antagoniste vis-à-vis de souches pathogènes testées. Cependant, les extraits d'éther diéthylique de *Phormidium sp* ont révélé une bonne activité antagoniste vis-à-vis de *S.typhimurium* et *K.pneumoniae*. Par ailleurs, les extraits méthanoliques et éthanoliques de *Phormidium sp* ont montré une faible activité antagoniste vis-à-vis de certains germes pathogènes testés. *E.coli* a montré une résistance vis-à-vis de la totalité des extraits de *Phormidium sp* testés.

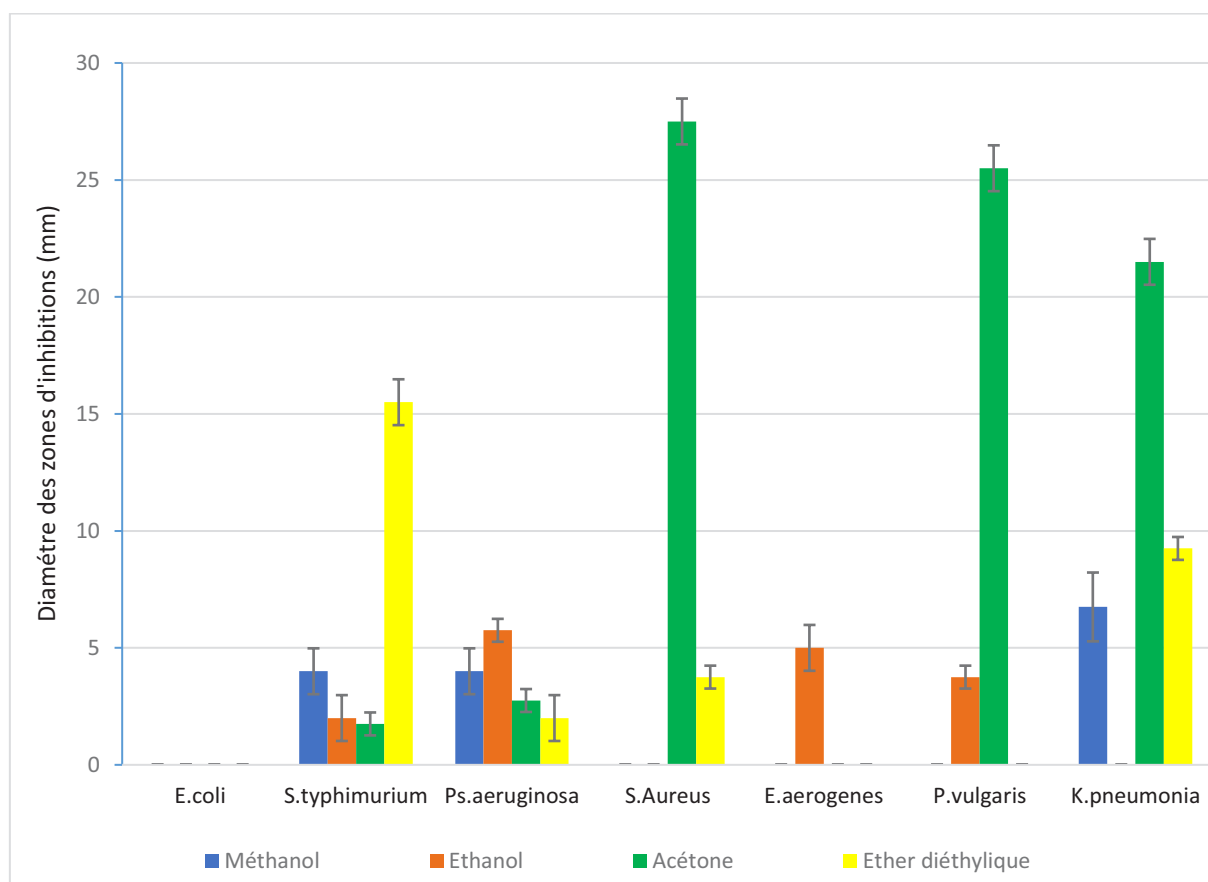


Figure 35 : L'étude de l'activité antibactérienne des extraits de *Phormidium sp*, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes.

3.10. L'étude de l'activité antifongique des extraits de *Phormidium sp*

L'étude de l'activité antifongique des substances extraites de *Phormidium sp*, est mise en évidence vis-à-vis de champignons filamenteux et la levure. Les résultats obtenus de l'activité antifongique illustrés dans la **Figure 36** ont montré que les extraits d'éther diéthyliques de *Phormidium sp* ont manifesté une excellente activité antagoniste vis-à-vis de *C.albicans*. Par ailleurs, les extraits acétoniques de *Phormidium sp* ont révélé une très faible activité antagoniste vis-à-vis de *Candida albicans*. Les souches fongiques tests ont montré une résistance vis-à-vis de l'extrait éthanolique de *Phormidium sp*.

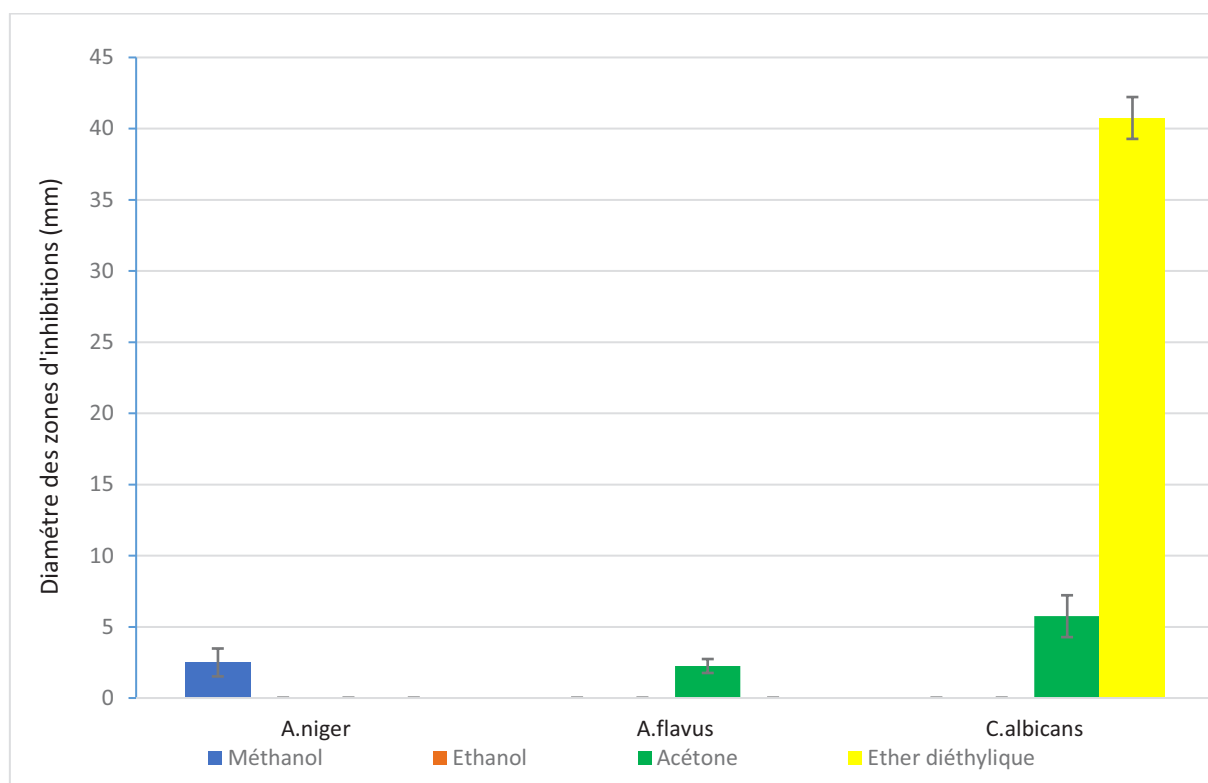


Figure 36 : L'étude de l'activité antifongique des extraits de *Phormidium sp.*, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes.

3.11. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits d'*Anabeana spherica*

L'étude de l'activité antibactérienne des substances extraites d'*Anabeana spherica*, est mise en évidence vis-à-vis de certaines souches pathogènes responsables des infections nosocomiales. Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne illustrés dans la **Figure 37** ont montré que les extraits méthanoliques d'*Anabeana spherica* ont manifesté une excellente activité antagoniste vis-à-vis de *S.aureus*, *E.coli*, et *E.aerogenes*. A l'opposé, les extraits acétonique d'*Anabeana spherica* ont montré aucune activité antagoniste vis-à-vis de germes pathogènes testés à l'exception de *Ps.aeruginosa*.

Résultats

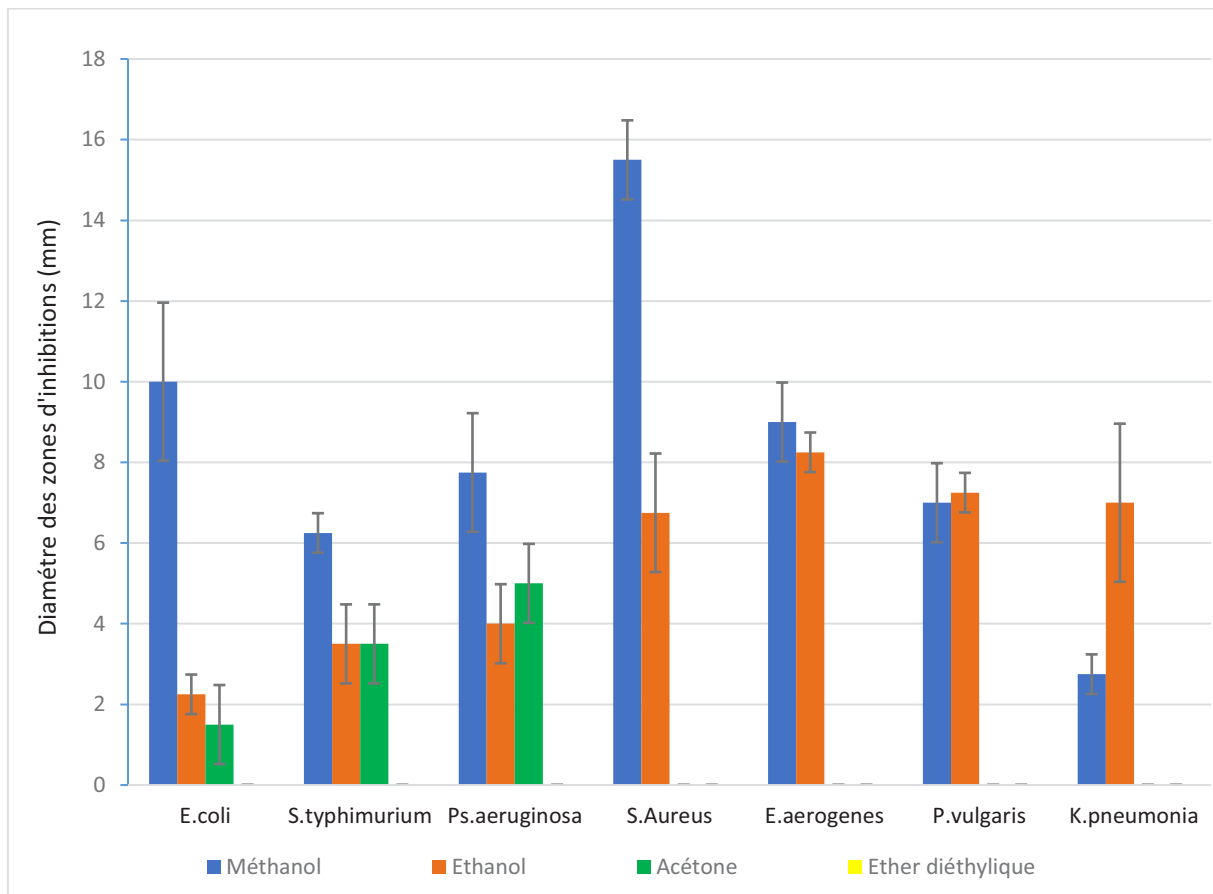


Figure 37 : L'étude de l'activité antibactérienne des extraits d'*Anabeana spherica*, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes.

3.12. L'étude de l'activité antifongique des extraits d'*Anabeana spherica*

L'étude de l'activité antifongique des substances extraites d'*Anabeana spherica*, est mise en évidence vis-à-vis de champignons filamenteux et la levure. Les résultats obtenus de l'activité antifongique illustrés dans la **Figure 38** ont montré que les extraits d'éther diéthylique ont manifesté une faible activité antagoniste vis-à-vis d'*A.flavus*. Par ailleurs, les autres extraits d'*Anabeana spherica* ont présenté aucune activité antagoniste vis-à-vis de champignons filamenteux et la levure.

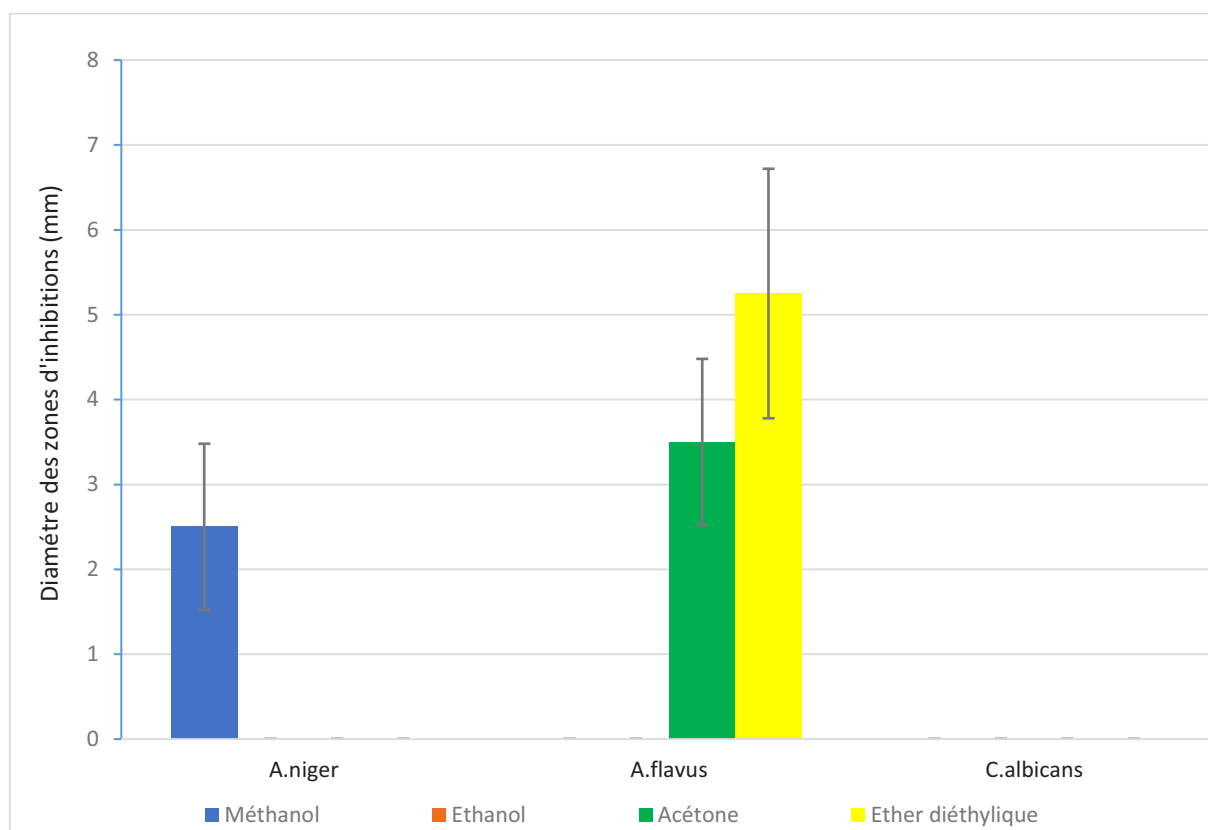


Figure 38 : L'étude de l'activité antifongique des extraits d'*Anabeana spherica*, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno inoculées sur milieu de culture liquide BG11, incubées à une température de 25°C avec une intensité lumineuse de 2000 lumens vis-à-vis de certaines souches fongiques pathogènes.

4. Caractérisation des pigments photosynthétiques de la souche de cyanobactérie, isolée sélectionnée antagoniste

L'étude de l'activité antagoniste d'*Anabeana spherica*, isolées à partir de l'eau du lac SMB et du barrage Sarno vis-à-vis de certaines souches bactériennes, fongiques pathogènes a montré que leurs extraits ont manifesté une excellente activité inhibitrice de 80 % vis-à-vis de la totalité des germes testés.

Les résultats de la caractérisation de la chlorophylle (**Figure 39**) ont montré que le pigment élué à un temps de rétention de 18,75 min et présent à une concentration de 9.23 %. Par ailleurs, le **Tableau 11** a permis l'exploration du temps de rétention et la détermination de la concentration des différents pigments solubles dans l'extrait de la souche la plus performante, analysée à des longueurs d'ondes comprises entre 190-600 nm.

L'analyse de l'extrait d'*Anabeana spherica* par l'utilisation de l'HPLC pour la caractérisation des pigments solubles organiques xanthophylles a permis la détection de 9 pics, dont

Résultats

l'identification est basée sur la mise en œuvre des étalons commerciaux et la comparaison des chromatogrammes disponibles dans la littérature.

La comparaison entre les pics obtenus avec les étalons commerciaux et les chromatogrammes a permis l'identification de α -carotène et β -carotène, qui représentent respectivement un taux de (4.3, 4.1 %). Cependant, la lutéine, l'astaxanthine et la violaxanthine sont présentes à un taux de (2.01, 1.89, 1.03 %). En outre, la canthaxanthine, la neoxanthine et la zeaxanthine se présentent respectivement une concentration de (0.82, 0.79, 0.41 %).

Tableau 10 : Détermination du temps de rétention et la concentration de la chlorophylle d'*Anabeana spherica*, isolée de l'eau du lac SMB.

Pigment	Temps de rétention (min)	Concentration %
Chlorophylle	18.75	9.23

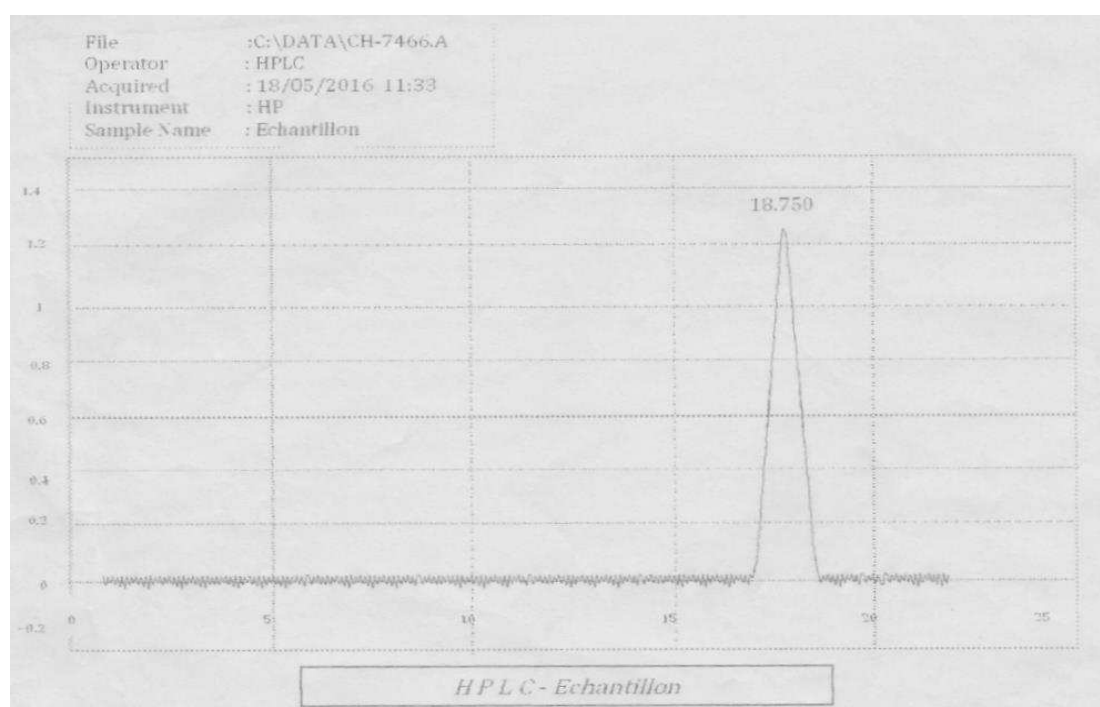


Figure 39 : Caractérisation des pigments de la chlorophylle extraites à partir d'*Anabeana spherica*, isolée de l'eau du lac SMB par la méthode HPLC-DAD.

Résultats

Tableau 11 : Exploration du temps de rétention et la détermination de la concentration des différents pigments de l'extrait d'*Anabeana spherica*, isolée de l'eau du lac SMB.

N° pics	Pigments	Temps de rétention	Concentration %
01	α -Carotène	6.410	4.3
02	β -Carotène	7.150	4.1
03	Lutéine	8.610	2.01
04	Zeaxanthine	12.400	0.41
05	Canthaxanthine	13.750	0.82
06	Neoxanthine	14.000	0.79
07	Astaxanthine	15.190	1.89
08	Violaxanthine	16.660	1.03

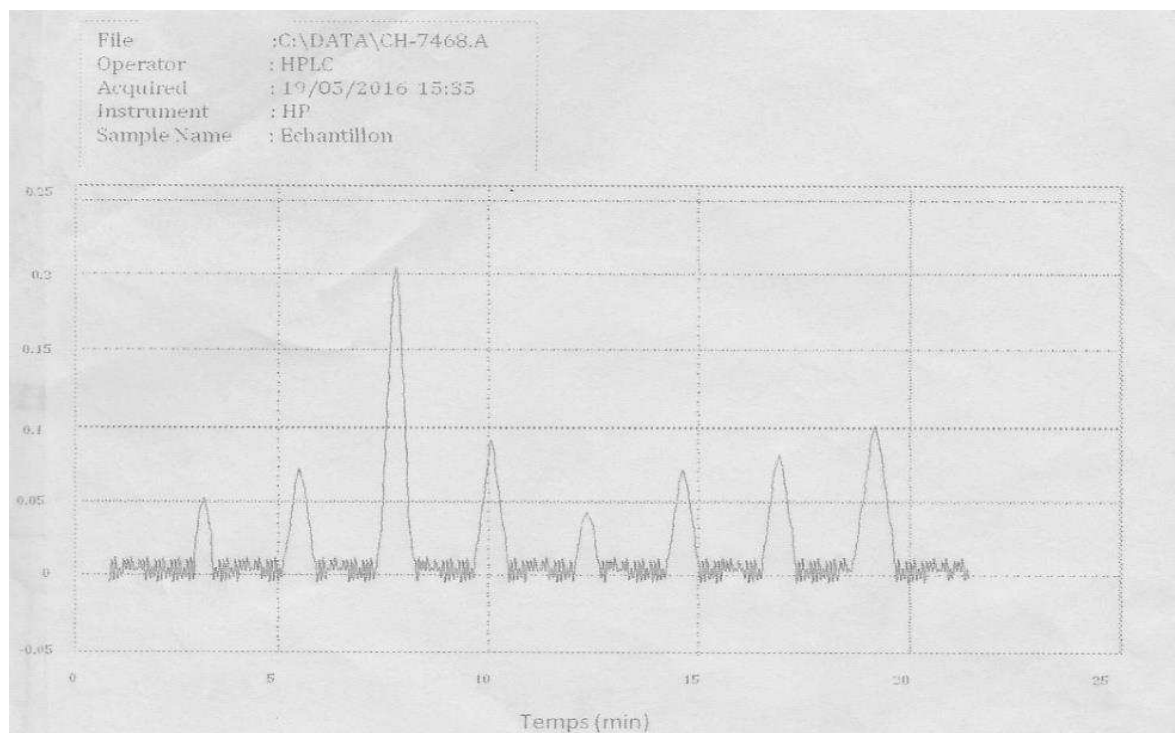
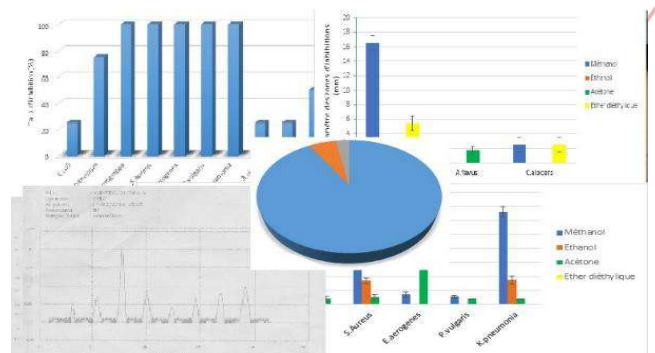
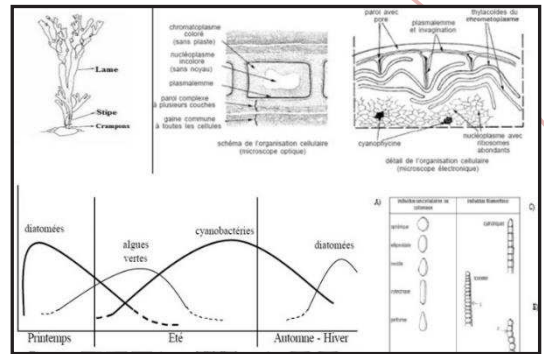


Figure 40 : Caractérisation des pigments fluorescents xanthophylles extraites à partir d'*Anabeana spherica*, isolée à partir de l'eau du lac SMB par l'HPLC.

Chapitre IV

Discussion



Discussion

L'activité antagoniste des cyanobactéries isolées des eaux douces du lac SMB et du barrage Sarno constitue un nouveau projet de recherche en Algérie.

L'objectif de ce travail est l'isolement, la purification des souches de cyanobactéries à partir des échantillons d'eaux douces, du lac SMB et du barrage Sarno, l'étude de l'activité antagoniste des molécules intracellulaires et extracellulaires produites chez les cyanobactéries vis-à-vis d'une large gamme de microorganismes responsables d'infections nosocomiales. La caractérisation de pigments photosynthétiques produits chez les cyanobactéries isolées sélectionnées antagonistes par l'appareil d'HPLC est envisagée.

L'étude portée essentiellement sur l'analyse des paramètres physico-chimiques des eaux douces du lac SMB et du barrage Sarno, a indiqué que l'eau du lac SMB constitue une source favorable de prolifération des cyanobactéries. Les valeurs de pH mesurées des eaux douces du lac SMB et du barrage Sarno constituent un facteur stimulant de la croissance des cyanobactéries.

Des travaux antérieurs réalisés par Oberholster et ses collaborateurs (2004) ont rapporté que la température de la croissance des cyanobactéries dans l'eau douce est relativement faible par rapport à la majorité des algues, favorisée par des températures supérieures à 20°C.

Par ailleurs, les travaux réalisés par Robarts ses collaborateurs (1987) ont suggéré que la température constitue l'un des facteurs essentiels impliqués dans la prolifération des cyanobactéries. La zone euphotique des eaux douces du barrage Sarno est très élevée par rapport à celle du lac SMB, ce qui explique la présence d'une importante quantité de molécules en suspension par rapport à celle du barrage Sarno, zone dans laquelle se multiplie le phytoplancton et les cyanobactéries.

Les nitrates (NO_3) et les nitrites (NO_2) sont les produits obtenus de l'oxydation de l'ion ammonium (NH_4) en nitrites et en nitrates, en présence de bactéries appartenant au genre *Nitrosomonas* de *Nitrobacter* respectivement.

Harding et ces collaborateurs (1999) ont rapporté que la présence d'une quantité suffisante de l'azote dans les eaux douces, constitue un facteur favorisant la croissance des cyanobactéries.

Les Oscillatoriaceae isolées à partir de l'eau du lac SMB ont représenté 75 %, ce qui explique la prédominance des cyanobactéries appartenant à cette famille au sein de la communauté phytoplanctonique. Des travaux antérieurs réalisés par Oufdou *et al.*, (2009) ont porté sur la prédominance des cyanobactéries dans les lacs peu profonds et des étangs.

Discussion

De nombreuses espèces appartenant à la famille d'Oscillatoriaceae sont répertoriées en Algérie dont *Pseudanabaena catenata* (Ghedadbia *et al.*, 2012), *Oscillatoria sp* et *Pseudoanabaena galeata* (Saoudi, 2009) et au Maroc *Pseudanabaena galeata*, *Pseudanabaena mucicola*, *Oscillatoria chlorina* (Oudra *et al.*, 2002).

Les Nostocaceae isolées à partir de l'eau du lac SMB ont représenté 25%, constituées essentiellement d'*Anabaena spherica*, espèce cosmopolite et souvent incriminée dans la formation de blooms toxiques (Oufdou *et al.*, 2009).

De nombreuses espèces isolées à partir de certains écosystèmes aquatiques au Maroc, dont *Anabaena aphanizomenoides*, responsables des blooms toxiques au lac Oued Mellah (Sabour *et al.*, 2002) et *Nostoc muscorum* souvent rencontrée dans la région d'Oukaimden (Oudra, 2001).

Deviram *et ces collaborateurs* (2011) ont rapporté que les cyanobactéries isolées à partir du sol appartiennent à la famille des Oscillatoriaceae.

Deux espèces de micro-algues isolées de la région Helwan (Egypte) ont manifesté une activité antimicrobienne vis-à-vis de nombreux micro-organismes pathogènes, dont certains sont des multirésistants (El-SEMARY *et al.*, 2011).

Quatre espèces appartenant à la famille des cyanobactéries isolées des eaux douces du lac SMB et une seule espèce du barrage Sarno sont identifiées.

L'étude réalisée sur l'activité antagoniste des cyanobactéries isolées des eaux douces du lac SMB et du barrage Sarno vis-à-vis des souches responsables d'infections nosocomiales a montré une excellente activité d'inhibition. De nombreux travaux réalisés ont montré que les cyanobactéries, dotés d'une activité antimicrobienne peuvent constituer une nouvelle source de molécules intéressantes (Ahmadi *et al.*, 2014). Par ailleurs, l'activité antagoniste des substances extracellulaires produites chez les cyanobactéries, isolées à partir de certains écosystèmes aquatiques marocains a montré que 25 % des molécules extracellulaires testées ont manifesté une excellente inhibition de la croissance de *M. luteus*, *B. subtilis*, *S. marcescens*, *B. cereus*, *E. coli* et *S. aureus* (Oufdou *et al.*, 2011). En outre, d'autres molécules extracellulaires produites chez *N. muscorum*, *N. piscinale*, *N. punctiforme* et *A. orizae* ont manifesté une inhibition de la croissance de *S. aureus* (Caire *et al.*, 1993).

Les résultats obtenus ont montré que les molécules extracellulaires d'*Oscillatoria sp* ont exercé une importante activité inhibitrice de la croissance de *K. pneumoniae* et *E. coli*.

Caire et ses collaborateurs 1993 ont rapporté que les molécules extracellulaires produites chez *Nodularia punctiforme*, *Nostoc muscorum*, *Nostoc piscinale*, *Anabaena orizae*, *Tolypothrix tenuis* et *Scytonema hofmani* ont révélé l'inhibition de la prolifération de

Discussion

C. albicans. Par ailleurs, le screening des substances extracellulaires produites chez les cyanobactéries, isolées des eaux douces du lac SMB et du barrage Sarno ont montré l'absence de l'activité inhibitrice de croissance de *C. albicans*, *A.flavus* et *A.niger*. Des travaux antérieurs de Birgit et Ulrich (2000) ont montré que les extraits d'*Oscillatoria limnetica* ont manifesté une inhibition de la croissance d'*E.coli*.

Les molécules excrétées par *Anabaena sp.*, *O.subtilissima* et *O.limnetica* ont révélé une activité inhibitrice de la croissance de *Saccharomyces cervisiae*. Cependant, la souche *B. subtilis* a exercé une excellente résistance vis-à-vis d'extraits extracellulaires d'*Oscillatoria latevirens*, *Lyngbya martensiana* et *Chroococcus minor* (Madhumathi *et al.*, 2011).

Kreitlow *et ses collaborateurs* (1999) ont rapporté sur les extraits aqueux de 12 espèces de cyanobactéries appartenant aux genres *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Pseudanabaena*, *Limnothrix* et *Synechocystis* qui ont manifesté aucune activité antagoniste vis-à-vis de certaines bactéries à Gram négatif telles que *E. coli*, *S. marcescens*, *Proteus mirabilis*, des bactéries à Gram positif telles que *S. aureus*, *B. subtilis* et la levure *C. albicans*.

Mundt *et ses collaborateurs* (2001) ont rapporté que les extraits aqueux de 35 souches appartenant à la famille de cyanobactéries ont révélé aucune activité antagoniste vis-à-vis de certaine bactérie à Gram négatif telle que *E. coli* et les bactéries à Gram positif telles que *B. subtilis*, *S. aureus*.

Les extraits d'*Oscillatoria princeps* ont manifesté une activité inhibitrice de la croissance de *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Brucella bronchiseptica* (Gupta *et al.*, 1965). Les molécules produites chez *Oscillatoria formosa* ont révélé une moyenne activité inhibitrice de la croissance d'*E.aerogenes* (Priyadharshini *et al.* , 2013). Ces résultats se concordent avec les travaux antérieurs de Gurbuz *et al.*, (2008), qui ont rapporté que *E. aerogenes* est sensible aux extraits méthanoliques d'*O. formosa*.

Les extraits méthanoliques de *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Tychonema bourrellyi* et *Anabaena lemmermannii* ont révélé une importante inhibition de la croissance de certaines bactéries à Gram positif telles que *S. aureus*, *B. subtilis*, et d'*E.coli* (Patra *et al.*, 2008).

Satsry *et ces collaborateurs* (1994) ont rapporté sur l'inhibition de la croissance de certaines bactéries responsables d'infections nosocomiales en présence des extraits chlorophormiques et méthanoliques de *Halimeda tuna* (Satsry *et al.*, 1994).

Les résultats obtenus ont montré que les extraits (méthanolique, l'éthanolique, l'acétonique et éther diéthylique) de cyanobactéries isolées des eaux douces du lac SMB et du barrage Sarno ont manifesté une importante activité antibactérienne et antifongique contre des souches pathogènes responsables d'infections nosocomiales.

Discussion

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne des molécules extracellulaires produites chez les cyanobactéries, isolées des eaux douces du lac SMB et du barrage Sarno ont montré que l'utilisation des extraits méthanolique et acétonique d'*Oscillatoria sp* ont manifesté une excellente activité antagoniste vis-à-vis de certains germes témoins de l'activité antibactérienne. Madhumathi *et ces collaborateurs* (2011) ont rapporté que l'utilisation de l'extrait acétonique d'*Oscillatoria latevirens* a révélé une très forte activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus mutans*. Des travaux antérieurs réalisés par Ahmadi *et al.*, (2014) ont rapporté que l'extrait méthanolique d'*Oscillatoria sp* a donné une importante activité inhibitrice vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* et *Streptococcus mutans*.

Les résultats obtenus ont montré que l'utilisation de l'extrait méthanolique d'*Oscillatoria* a donné une excellente activité inhibitrice de *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*. Par ailleurs, l'extrait acétonique d'*Oscillatoria* a présenté une importante activité inhibitrice de la croissance d'*Enterobacter aerogenes*.

Des travaux antérieurs réalisés par Sakthivel *et al.*, (2011) ont rapporté que l'extrait méthanolique d'*Oscillatoria saliva* a exercé une activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Shigella flexneri*. Bharat *et ces collaborateurs* (2013) ont suggéré que l'utilisation de l'extrait éthanolique de *Microcoleus sp.* a manifesté une excellente activité inhibitrice de la croissance d'*Escherichia coli*. Sakthivel *et al.*, (2011) ont rapporté que certaines cyanobactéries marines unicellulaires appartenant au genre *Synechocystis* et *Synechococcus* ont exercé une activité inhibitrice vis-à-vis de certaines bactéries à Gram négatif telles que *Shigella flexneri* et *Salmonella typhi*.

Par ailleurs, l'utilisation des extraits acétoniques de *Phormidium sp.* a exercé une forte activité inhibitrice de la croissance de *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* et *Staphylococcus aureus*, et une très faible activité inhibitrice de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

Des travaux antérieurs réalisés par Sakthivel *et ces collaborateurs* (2011) ont rapporté que *Phormidium tenu* a manifesté un effet inhibiteur sur la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhi*. Ahmadi *et ces collaborateurs* (2014) ont rapporté que les extraits méthanoliques et les extraits acétoniques de *Lyngbya sp* ont manifesté une très forte activité antibactérienne vis-à-vis d'*Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*.

Des travaux antérieurs réalisés par Priyadharshini *et al.*, (2013) ont rapporté que les extraits méthanoliques et acétoniques de *Lyngbya aestuarii* ont manifesté une importante activité inhibitrice de la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhi*. Par ailleurs, l'utilisation des extraits méthanoliques et acétoniques de *Spirulina plantensis* a manifesté une

Discussion

importante activité inhibitrice de la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhimurium* (Kumar, *et al.*, 2011).

Les résultats obtenus ont montré clairement que l'utilisation des extraits méthanoliques de *Lyngbya sp* a exercé une importante activité inhibitrice de la croissance de *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Tuney et ses collaborateurs (2006) ont rapporté que les extraits acétoniques de *Lyngbya martensiana* ont exercé une excellente activité inhibitrice de la croissance des souches bactériennes pathogènes responsables d'infection urinaire. Des travaux antérieurs réalisés par (Bharat *et al.*, 2013) ont rapporté que l'utilisation des extraits de *Lyngbya officinalis* a révélé une forte activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* (Bharat *et al.*, 2013).

Des travaux antérieurs réalisés par Kaushik et ses collaborateurs (2009) ont rapporté que l'utilisation des extraits d'*Anabeana sp.* a manifesté l'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus*, d'*Escherichia coli*, de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Klebsiella pneumoniae* et de *Salmonella typhi*.

L'utilisation des extraits méthanoliques et acétoniques d'*Anabeana spherica* a montré une excellente activité inhibitrice de d'*Escherichia coli*, d'*Enterococcus facium*, de *Staphylococcus aureus* et de *Salmonella senftenber* (El-Aty *et al.*, 2014).

Les résultats obtenus ont montré que l'utilisation des extraits méthanoliques d'*Anabeana spherica* a exercé un excellent pouvoir d'inhibition de la croissance d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Proteus vulgaris*. Bharat et ces collaborateurs (2013) ont rapporté que l'utilisation des extraits d'*Anabeana sp*, *Anabeana variabilis* a manifesté une excellente activité inhibitrice vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et de *Bacillus subtilis*.

El-Aty et ces collaborateurs (2014) ont rapporté que l'utilisation des extraits méthanoliques et acétoniques d'*Anabeana spherica* ont manifesté aucune activité inhibitrice de la croissance de *Salmonella typhimurium*. Par ailleurs, les résultats obtenus de l'activité antibactérienne des extraits éther diethyliques d'*Oscillatoria sp*, *Lyngbya sp* et *Anabeana spherica* vis-à-vis les souches bactériennes pathogènes responsables d'infections nosocomiales sont comparables à ceux rapportés par Madhumathi *et al.*, (2011), qui ont montré que *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* se manifestent résistantes aux extraits d'éther diethyliques d'*Oscillatoria latevirens*, *Phormidium corium* et *Microcystis aeruginosa*.

Sakthivel *et ces collaborateurs* (2011) ont rapporté que les extraits méthanoliques d'*Oscillatoria willei*, *Phormidium tenue* et *Phormidium fragile* ont manifesté aucune activité inhibitrice vis-à-vis de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Discussion

Les résultats obtenus ont montré que l'utilisation des extraits des cyanobactéries, isolées des eaux douces du lac SMB et du barrage Sarno a manifesté un faible pouvoir d'inhibition de la croissance d'*Escherichia coli*. Par ailleurs, des travaux antérieurs réalisés par Madhumathi *et al.*, (2011) ont montré que l'extrait méthanolique d'*Anabeana spherica* a manifesté une moyenne activité inhibitrice de la croissance d'*Escherichia coli*.

Naveen et ces collaborateurs (2013) ont rapporté que les extraits de *Lyngbya officinalis*, *Anabaena fertilissima* et *Anabeana variabil* ont exercé une faible activité inhibitrice vis-à-vis d'*E.coli* et *Micrococcus flavus*.

Des travaux antérieurs réalisés par Kreitlow *et al.*, (1999) ont rapporté que les extraits d'*Oscillatoria sp.* et *Limnothrix sp.*, isolées des eaux salées ont manifesté une faible activité inhibitrice vis-à-vis d'*Escherichia coli*. Par ailleurs, les extraits *Anabeana*, *Limnothrix* et *Synechocystis* ont révèlent une inhibition de la prolifération de *Candida albicans*. Les travaux antérieurs réalisés par Cano *et al.*, (1990) ont rapporté que *Candida albicans* a montré une résistance aux extraits de *Nostoc muscorum*.

Les résultats obtenus ont montré que l'utilisation des extraits d'éther diéthylique de *Lyngbya sp* de *Phormidium sp* ont révélé une excellente activité inhibitrice de croissance de *Candida albicans*. Sakthivel *et al.*, (2011) ont rapporté que les extraits méthanoliques de *Synechocystis salina*, *Spirulina subsalsa*, *Oscillatoria cortiana*, *Oscillatoria salina*, *Oscillatoria willei*, *Phormidium fragile* et *Phormidium tenue*, isolées du lac de Pichavaram, (Inde) ont manifesté une excellente activité inhibitrice contre cinq souches fongiques pathogènes.

Sundararaman *et al.*, (2006) ont rapporté que l'activité antifongique est fortement liée à la souche de cyanobactéries productrices de molécules inhibitrices et la nature du solvant d'extraction utilisé. Sakthivel *et al.*, (2011) ont rapporté que les substances inhibitrices produites chez *Oscillatoria latevirens*, *Phormidium corium*, *Lyngbya martensiana*, *Chroococcus minor*, *Microcystis aeruginosa* sont très efficaces par rapport aux agents antibactériens et antifongiques.

Par ailleurs, les résultats obtenus ont montré que les molécules extracellulaires produites chez *Oscillatoria sp.* et *Anabeana spherica* ont manifesté aucune activité inhibitrice vis-à-vis de *Candida albicans*. Les travaux antérieurs réalisés par Sundararaman *et al.*, (2006) ont rapporté que l'espèce *Phormidium* a manifesté une importante activité inhibitrice de la croissance de *Candida albicans*.

Sakthivel *et al.*, (2011) ont montré que les extraits d'*Oscillatoria salina* ont révélé une forte activité inhibitrice de la croissance de *Fusarium solani*, *Candida albicans* et *Pyricularia oryzae*. Cependant, les travaux de Caire et ses collaborateurs (1993) ont montré que les substances

Discussion

extracellulaires produites chez *Anabaena orizae* et *Nostoc piscinale* ont inhibé la croissance de *Candida albicans*. Les extraits de *Nostoc paludosum* ont exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis de *Candida albicans* avec des diamètres des zones d'inhibition de 23 mm (Ramachandra *et al.*, 1994).

Les extraits de *Nostoc commune* ont exercé une activité inhibitrice de croissance de *Candida albicans* (deMule *et al.*, 1991). Les cyanobactéries peuvent constituer une nouvelle source de molécules antifongiques (Kim *et al.*, 2006).

Le screening des molécules extracellulaires a montré que les extraits d'éther diéthylique et acétonique de *Spirulina platensis* ont manifesté une excellente activité inhibitrice de la croissance vis-à-vis de souches fongiques pathogènes responsables d'infections nosocomiales Tuney *et al.*, (2006).

Des travaux antérieurs réalisés par Kim *et al.*, (2006) ont rapporté que les souches de cyanobactéries appartenant aux genres *Oscillatoria*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Nodularia*, et *Calothrix* ont manifesté une activité antifongique vis-à-vis de nombreux champignons pathogènes. Prashantkumar, et ses collaborateurs (2006) ont rapporté que les extraits méthanoliques de cyanobactéries ont manifesté une excellente activité antifongique vis-à-vis de *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*. Les résultats obtenus ont montré que la souche fongique *Aspergillus flavus* a montré une résistance aux extraits d'*Oscillatoria sp*, *Lyngbya sp* et *Phormidium sp*. Nos résultats sont en parfaite corrélation avec les travaux antérieurs réalisés par Sakthivel *et al.*, (2011) qui ont rapporté que *Aspergillus Flavus* et *aspergillus fumigatus* ont manifesté une forte résistance aux extraits d'*Oscillatoria cortiana*, *Oscillatoria salina*, *Phormidium fragile* et *Synechocystis salina*. Par ailleurs, *Candida albicans* et *Colletotrichum falcatum* ont montré une résistance aux extraits d'*Oscillatoria willei* et *Spirulina subsalsa* Sakthivel *et al.*, (2011). Nos résultats se concordent avec les travaux antérieurs réalisés par Oufdou *et al.*, (2009), qui ont rapporté que *Candida albicans* a montré une résistance aux extraits de *Pseudoanabeana sp.* et *Oscillatoria sp.* Les extraits d'éther diéthylique de *Chroococcus minor*, *Phormidium corium* et *Oscillatoria latevirens* ont révélé une excellente activité antifongique vis-à-vis de *S. cerevisiae* et *C.albicans* (Madhumathi *et al.*, 2011).

Les résultats obtenus ont montré que les extraits éthers diéthyliques de *Lyngbya sp.* et *Phormidium sp.* ont exercé une excellente activité antifongique vis-à-vis *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*. A cet effet, les pigments photosynthétiques des cyanobactéries peuvent être impliqués dans l'activité inhibitrice de la croissance de certaines souches responsables d'infection urinaire (Yamazaki *et al.*, 2004).

Discussion

Penny, (2013) a rapporté que les différents pigments de xanthophylle solubles dans les solvants organiques ont contribué à l'inhibition de la prolifération des souches bactériennes pathogènes notamment *Helicobacter pylori* (Penny, 2013).

Les résultats de la caractérisation des pigments fluorescents ont montré que le composé majeur de l'extrait d'*Anabaena spherica* est la chlorophylle, pigment photosynthétique primordial des cyanobactéries. Par ailleurs, les molécules α -carotéine et β -carotéine sont présentes à des concentrations moyennes par rapport à la chlorophylle.

Des travaux antérieurs réalisés par (Gao, 2005 ; Osowski, 2010; Yamazaki *et al.*, 2004, Larato *et al.*, 1970) ont rapporté sur les activités inhibitrices de la croissance des souches bactériennes responsables d'infections urinaires, le soulagement des symptômes de la cystite, anti-inflammatoire par accélération de la cicatrisation lors de l'application de la chlorophylle directement sur les plaies et anticancéreuses par réduction du taux de cancer de foie de 64-29 % et de l'estomac de 45-24% (McQuistan *et al.*, 2011). La chlorophylle a exercé une activité antioxydante. Cependant, les travaux antérieurs réalisés par de Bolor et ses collaborateurs (2004) ont rapporté sur l'activité antioxydante de la chlorophylline par rapport à la resvératrol, molécule organique, utilisé comme meilleur outil dans la lutte contre les dommages oxydatifs induits par des agents cancérigènes chimiques et les radiations.

La lutéine est une molécule exerçant une activité anti-oxydante et permet la réduction des dégâts causés par les radicaux libres et par conséquent la réduction du taux de cancer du sein et ralentissement de l'athérosclérose les artères bouchées et les maladies cardiovasculaires (Bardoulat, 2007 ; Kim, 2015).

Des travaux antérieurs réalisés par Bolor et ses collaborateurs (2004) ont rapporté que l'astaxanthine a contribué à la protection de la peau contre les effets nocifs des rayons ultraviolets, l'atténuation de la dégénérescence maculaire liée au vieillissement, la protection contre certains cancers induits par des produits chimiques, l'augmentation des niveaux de lipoprotéines de haute densité et la stimulation du système immunitaire.

La violaxanthine est un caroténoïde manifestant une activité inhibitrice de la croissance des souches bactériennes, antiviral, antiallergique et antiplasmodique, et contribue au bon fonctionnement de l'appareil digestif et la prévention des ulcères (Penny, 2013).



''Conclusion et perspectives''

Conclusion et Perspectives

L'étude de l'activité antagoniste des cyanobactéries présente un intérêt particulier afin de pallier à un certain nombre de problèmes rencontrés notamment dans les secteurs pharmaceutique, alimentaire, industriel, médical, écologique et environnemental.

L'objectif de ce présent travail est la purification, l'identification des cyanobactéries isolées des eaux douces du lac SMB et du barrage Sarno de la wilaya de Sidi Bel Abbes et l'étude de leur activité antagoniste vis-à-vis de certaines souches bactériennes et fongiques pathogènes, ainsi que la caractérisation des pigments photosynthétiques produites chez la souche sélectionnée antagoniste par la technique d'HPLC.

Le criblage primaire a permis l'isolement de quatre souches de cyanobactéries à partir des eaux douces du lac SMB et du barrage Sarno. Les Oscillatoriaceae ont représenté 75 % des souches isolées.

L'utilisation des extraits méthanoliques et acétoniques d'*Oscillatoria sp*, et l'extrait méthanolique d'*A.spherica* et *lyngbya sp* ont manifesté une excellente activité antibactérienne vis-à-vis des germes témoins de cette activité.

La souche *E.coli* a présenté une forte résistance par rapport à la totalité des extraits des cyanobactéries isolées.

Par ailleurs, l'étude de l'activité antifongique des cyanobactéries vis-à-vis des champignons filamenteux : *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aspergillus flavus* ATCC 10124 a révélé que les extraits d'éther diétyliques de *Lyngbya sp* et *Phormidium sp* ont manifesté une excellente activité antagoniste. Par contre, les molécules extraites d'*Anabeana spherica* ont manifesté une faible activité antagoniste vis-à-vis de souches fongiques pathogènes.

A.flavus et *C.albicans* ont montré une résistance aux extraits acétoniques des cyanobactéries.

La caractérisation des pigments photosynthétiques qui peuvent être responsables de l'activité antagoniste d'*Anabeana spherica*, réalisée par la technique d'HPLC a permis l'identification de 9 composés : la chlorophylle, α -carotène, β -carotène, la luteine, l'astaxanthine, la violaxanthine, la Zeaxanthine, Neoxanthine et Canthaxanthine.

La présente étude a fourni une idée de base pour la lutte contre les souches pathogènes responsables d'infections nosocomiales et a montré le grand potentiel antimicrobien de certaines souches de cyanobactéries isolées des eaux douces vis-à-vis des souches d'intérêt sanitaire.

Conclusion et Perspectives

Des questions subsistent encore et de nouvelles perspectives s'ouvrent afin de mieux comprendre le mécanisme d'action des molécules responsables de l'activité antagoniste.

Des études approfondies doivent compléter ce modeste travail tel que :

- ✓ Etude de la biodiversité des cyanobactéries présentes dans les différents retenus d'eau.
- ✓ L'identification moléculaire par amplification des fragments ADN codant la région ARN 16S.
- ✓ Caractérisation des molécules impliquées dans l'activité antagoniste par des techniques modernes telles HPLC, FPLC



“
Références
”
Bibliographiques

Références bibliographiques

Abarzua S., Jakubowski S., Eckert S., Fuchs P. (1999). Biotechnological investigation for the prevention of marine biofouling II. Blue-green algae as potential producers of biogenic agents for the growth inhibition of microfouling organisms. *Botanica Mar.* 42: 459-465.

Abdo S. M., Hetta M. H., Samhan F. A., El Din R. A. S., Ali G. H. (2012). Phytochemical and antibacterial study of five freshwater algal species. *Asian Journal of Plant Sciences.* 11(3): 109-116.

Aboun A., Aoun L., Bendimerad K., Boukerrou A., Kechich S. (2001). AntibioGramme en médecine vétérinaire. Standardisation de l'aromatogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. Algérie édition. 7-8.

Ahmadi F. M., Hosseini F. (2014). Antimicrobial activity of cyanobacteria isolated from Shahid Rajaei hydrothermal freshwater fish pool in the city of Sari. *Cibtech Journal of Zoology* 3(2): 64-67.

Ainane T. (2011). Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseirataris cifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. Thèse de doctorat en chimie. Université Hassan II Casablanca. Maroc.

Amazian K., Rossello J., Castella A., Sekkat S., Terzaki S., Dhidah L., Abdelmoumène T., Fabry J. (2010). Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. *Eastern Mediterranean Health Journal.* 16 (10) :1070-1078.

Anagnostidis K., Komarek J. (1985-1989). "Modern approach to the classification of cyanophytes. "Archives Hydrobiol. 1985, 1- Introduction, suppl.71, *Algol. Stud.*38/39: 291-302; 1986, 2-Chroococcales, suppl.73, *Algol. Sud.*43: 157-226; 1988, 3-Oscillatoriales, Suppl.80, *Algol. Stud.* 50/53: 327-472; 1989, 4-Nostocales, suppl. 82, *Algol.Stud.* 56: 247-345.

Araoz R., Molgo J., Tandeau De Marsac N. (2010). Neurotoxic cyanobacterial toxins. *Toxicon.* 56: 813-828.

Archana T., Shivani (2012). Antioxidative potential of catalase in bloom forming cyanobacteria- *Anabaena variabilis* and *Synechococcus elongates*. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 3 (3): (B) 956-966.

Références bibliographiques

- Aubourg S., Boudet N., Kreis M., Lecharny A. (2000).** In *Arabidopsis thaliana*, 1% of the genome codes for a novel protein family unique to plants. *Plant Molecular Biology*. 42: 603-613.
- Ballot A., Krienitz L., Kotut K., Wiegand C., Metcalf J. S., Codd G. (2004).** Cyanobacteria and cyanobacterial toxins in three alkaline rift valley lakes of Kenya lakes Bogoria, Nakuru and Elmenteita. *Journal of Plankton Research*. 26 (8): 925-935.
- Bardoulat M. (2006).** Les bienfaits de la mer : des algues à la thalassothérapie, les multiples vertus des produits de la mer. éd. Alpen. 33.
- Bendjelloul N., Boughrara G. (2005).** Contribution à l'étude du lac Sidi M'hamed Ben Ali. Qualité et état de santé. (4): 69-85.
- Berman T. (2000).** The role of DON and the effect of N:P ratios on occurrence of cyanobacterial blooms: implications from the out growth of *Aphanizomenon* in lake Kinneret. *Journal Limnol. Oceanogr.* 46(2): 443-447.
- Bernard C., Harvey M., Briand J. F., Bire R., Fontaine J. J., Krysz S. (2003).** Liver damage caused by a French *Cylindrospermopsis raciborskii* strain: comparison with diverse *C. raciborskii* toxic strains. *Environ Toxicol.* 18: 176-186.
- Blais S. (2008).** Guide d'identification des fleurs d'eau de cyanobactéries. Comment les distinguer des végétaux observés dans nos lacs et nos rivières, 3e édition, Direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs. 54.
- Blanc V., Mesa R., Saco M., Lavilla S., Prats G., Miro B. (2006).** ESBL - and plasmidic class C beta-lactamase-producing *E.coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Veterinary Microbiology.* 118: 299-304.
- Bolloor K. K., Devasagayam T. P. A., Mohan H. (2004).** Mechanisms responsible for the antioxidant properties of chlorophyllin: a pulse radiolysis study. *BARC Newsletter.* 249.
- Bouchard M., Vincent W.F., Arsenault S. (2002).** Ecologie des cyanobactéries. EXXEP Environnement. Québec. 4-7.
- Bourrelly P. (1985).** Les algues d'eau douce, Initiation à la systématique. Tome III, Les algues bleues et rouges, Les Eugléniens, Péridiniens et Cryptomonadines. Coll. Faunes et flores actuelles. Paris. 1-603.
- Briand J. F., Jaquet S., Bernard C., Humbert J. F. (2003).** Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Veterinary Research Journal On Animal Infection.* 34 (4): 361-377.

Références bibliographiques

- Brient L., Legeas M., Leitao P., Peigner P. (2004).** Etude interrégionale grand ouest sur les cyanobactéries en eau douce ; Caractérisation de sites à usage d'eau potable et de loisirs vis-à-vis de la prolifération de cyanobactéries ; Examen des causes de développement des algues et proposition d'un suivi sanitaire. Drass Bretagne, Pays de la Loire et Basse Normandie. 82.
- Brient L., Vezie C., Bertru G. (2002).** Synthèse des connaissances et mise en place d'un protocole de surveillance des réservoirs pour le traitement de l'eau potable et des plans d'eau servant aux activités récréatives. UMR Ecobio. Université de Rennes. 1-28.
- Burja A. M., Banaigs B., Abou-Mansour E., Burgess J. G. And Wright P. C. (2001).** Marine cyanobacteria - a prolific source of natural products. *Tetrahedron* 57 (46): 9347-9377.
- Caire G. Z., De cano M. S., De mulé C. Z., De halperin D. R. (1993).** Screening of cyanobacterial bioactive compounds against human pathogens. *Phyton*. 54 (1): 59-65.
- Callon C., Gilbert F. B., De Cremoux R., Montel M. C. (2008).** Application of variable number of tandem repeat analysis to determine the origin of *S. aureus* contamination from milk to cheese in goat cheese farms. *Food Control*. 19 : 143-150.
- Camille D. (1998).** Microbiologie, 90 heures de travaux pratiques. Gaetan Morin Editeur. Paris. 53-59.
- Cano M. M. S., Mule M. C. Z., Cair G. Z., Halperin D. R. (1990).** Inhibition of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* by phenolic compound from the terrestrial cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *J. Appl. Phycol.* 2: 29-81.
- Carmichael W.W. (1992).** Cyanobacteria secondary metabolites-The cyanotoxins. *Journal of Applied Bacteriology*. 72: 445-459.
- Carmichael W.W., Falconer I.R. (1993).** Diseases related to freshwater blue-green algal toxins and control measures. *Algal toxins in seafood and drinking water*. Academic Press, London. 187-209.
- Carrabin D. (2011).** Détection et identification moléculaires de populations cyanobactériennes productrices de microcystines au Québec. Thèse de Doctorat. Université du Québec à Trois-Rivières 5.
- Castenholz, R. W. (2001).** Phylum BX. Cyanobacteria. Oxygenic photosynthetic bacteria. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 1: The Archaea and the deeply Branching and phototropic bacteria. Second Edition. Springer-Verlag. New York.
- Chorus I., Bartram J. (1999).** Toxic cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. Spon. London. 416.

Références bibliographiques

- Chouder N. (2006).** Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionnels sains. Thèse de magister en médecine vétérinaire. Université Mentouri Constantine. Algérie.
- Christian R. (2013).** Mycologie médicale. Lavoisier. 201-203.
- Claisse D. (2007).** Surveillance chimique : guide de prélèvement d'échantillons marins pour l'analyse des contaminants chimiques. Direction centre de Nantes. 9-23.
- Coute A., Bernard C. (2001).** Les cyanobactéries toxiques. Les toxines d'algues dans l'alimentation. Edité par Frémy J. M. & Lassus P. Plouzané, Editions Ifremer. 21-37.
- Crayton M.A. (1993).** Toxic Cyanobacteria Blooms : A Field/Laboratory Guide. Office of Environmental Health Assessments, Washington State Department of Health, Olympia.
- Davet P. (1996).** Vie microbienne du sol et production végétale. Editions Quae.91-152.
- De Mule M., De Caire G., De Cano M., Helperin D. (1991).** Bioactive compound from *Nostoc muscorum* (Cyanobacterium). Journal Cytobios. 66: 169-172.
- Delépine R., Boudouresque C. F., Fradà-Orestano C., Noailles M. C., Asensi A. (1987).** Algues et autres végétaux marins. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et mer noire. Zone de pêche 37, Volume I. Végétaux et Invertébrés.
- Des Abbayes H., Chadefaud M., Feldmann J., De Ferre Y., Gausсен H., Grasse P.P. (1978).** Précis de botanique 1. Végétaux inférieurs. 67-93.
- Desikachary T.V. (1972).** Taxonomy and biology of blue-green algae. Madras Center for advanced Study in Botany. 511-591.
- Deviram G. V. N. S., Pant G., Gyana Prasuna R. (2011).** Antimicrobial activity of pesticide adapted cyanobacteria on fungal pathogens of rice. European Journal of Experimental Biology. 1(4): 50-54.
- Diadie D. (2009).** Production d'aliments enrichis en acides gras polyinsaturés à partir de micro-algues pour les besoins aquacoles. Institut des sciences de la mer de Rimouski. Québec 3. 64-65.
- Downing, J. A., Watson S. B., Mccauley E. (2001).** Predicting cyanobacteria dominance in lakes. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58: 1905-1908.
- Dumont V. (2006).** Etude des cyanobactéries dans la rivière TARN-Campagne été 2005. Centre de Ressources Technologiques en Biotechnologie – Bioprocédés. 7-8.
- Duy T. N. (2000).** Toxicology and risk assessment of fresh water cyanobacterial (Blue-Green Algal) toxins in Water. Reviews of environmental Contamination and Toxicology. 163: 113-186.

Références bibliographiques

- Dyble J., Gary L., Fahnenstiel R., Wayne L., David F., Millie P. (2008).** Microcystin concentrations and genetic diversity of *Microcystis* in the lower Great lakes. *Environ Toxicol.* 23: 507-516.
- Edwards C., Lawton L. A. (2009).** Bioremediation of cyanotoxins. *Adv. Appl. Microbiol.* 67: 109-129.
- El-Aty A. M. A., Mohamed A. A., Samhan F. A. (2014).** In vitro antioxidant and antibacterial activities of two fresh water Cyanobacterial species, *Oscillatoria agardhii* and *Anabaena sphaerica*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 4 (07): 69-75.
- El-SEMARY A., MABROUK M. (2013).** Molecular characterization of two microalgal strains in Egypt and investigation of the antimicrobial activity of their extracts. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement.* 17: 1370-6233.
- Farmer J. J., Davis B. R., McWhorter A., Huntley-Carter G. P., Asbury M. A., Riddle C., Wathen-Grady H. G., Elias C., Fanning G. R. (1985).** Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 21(1): 46-76.
- Fauchere L., Avril J. (2002).** Microbiologie générale et médicale. Edition ellipses paris. 141-319.
- Fay P., Van Baalen C. (1987).** The cyanobacteria. Elsevier. Amsterdam. 534.
- Feuillade J. C. (1992).** Les toxines des cyanobactéries : Revue de synthèse. *Journal of Water Science.* 5 :489-508.
- Floc'h J. Y., Leclerc V. (2010).** Les secrets des algues. Edition Quae. 10-13.
- Gao F., Hu X. F. (2005).** Analysis of the therapeutic effect of sodium copper chlorophyllin tablet in treating 60 cases of leukopenia. *Chin. J. Integr. Med.* 11(4): 279-282.
- Garrity G., Boone D. R., Castenholz R. W. (2001).** Volume 1: The archaea and the deeply branching and phototropic bacteria. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Springer-Verlag New York. 722.
- Germanier R. (2012).** Bacterial vaccines, 1st Edition. Editor Academic Press. 332-333.
- Goubau P., Pellegrimse E. (2000).** Repères en microbiologie. Garant, Édition3. 116-117.
- Gow, N. A. (2002).** *Candida albicans* switches mates. *Mol Cell,* 10: 217-218.
- Greuter W., J. Mc Neil F. R., Barrie H. M., Burdet V., Demoulin T. S., Filgueiras D. (2000).** International Code of Botanical nomenclature (Saint Louis Code). *Regnum Vegetabile.* Koeltz scientific Books. 474.

Références bibliographiques

- Gugger M., Lyra C., Henriksen P., Coute A., Humbert J. F., Sivonen K. (2002).** Phylogenetic comparison of the cyanobacterial genera *Anabaena* and *Aphanizomenon*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52: 1867-1880.
- Guillaume, P. (2010).** Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes-Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de microorganismes impliquées dans leur adhésion. Thèse de doctorat en biochimie. Université de la Rochelle, France.
- Guiry M. D., Guiry G. M. (2014).** Algae Base. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway.
- Gupta A. B., Shrivastava G.C., (1965):** On antibiotic properties of some fresh water algae. *Hydrobiologia.* 25: 285-288.
- Gurbuz F., Sandilere H., GulKarahan A. (2008).** Microbial growth inhibition by bioactive compounds found in algae. *Fresenius Environmental Bulletin.* 17: 962-968.
- Harding W. R., Wright S. (1999).** Initial findings regarding changes in phytoplankton and zooplankton composition and abundance following the temporary drawdown and refilling of a shallow, hypertrophic South African coastal lake. *Journal Lake and Reservoir Management.* 15(1): 47-53.
- Hasley C., Leclerc H. (1993).** Microbiologie des eaux d'alimentation. Lavoisier Tec Doc. 91-98.
- Havens K. E. (2008).** Cyanobacteria blooms: effects on aquatic ecosystems. *Adv Exp Med Biol.* 619:733-47.
- Hickman F. W., Steigerwalt A. G., Farmer J. J., Brenner D. J. (1987).** Identification of *Proteus penneri* sp. nov. formerly known as *Proteus vulgaris* indole negative or as *Proteus vulgaris* biogroup 1. *journal of clinical microbiology.* 15(6):1097-1102.
- Hill M. J. (1991).** Nitrates and nitrites in food and water. Elsevier. 60.
- Hoek C., Mann D., Jahns H. M. (1995).** Algae. An introduction to phycology. Cambridge University Press. 623.
- Hoffmann L., Komarek J., Kastovsky J. (2005).** System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria)- state in 2004. *Algol. Stud.* 117: 95-115.
- Hortense F. (2011).** Les applications et la toxicité des algues marines. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges. France.
- Humpage A. (2008).** Toxin types, toxico-kinetics and toxico-dynamics. *Adv. Exp. Med. Biol.* 619: 383-415.

Références bibliographiques

- Jacoby J. M., Collier D. C., Welch E. B., Hardy F. J., Crayton M. (2000).** Environmental factors associated with toxic bloom of *Microcystis aeruginosa*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57: 231-240.
- Jaiswal P., Singh Pk., Prasanna R. (2008).** Cyanobacterial bioactive molecules-an Overview of their toxic properties. *Canadian Journal of Microbiology.* 54(9) : 701-717.
- Janse van Vuuren S., Taylor J., Gerber A., van Ginkel C. (2006).** Easy identification of the most common freshwater algae. A guide for the identification of microscopic algae in South African freshwaters. ISBN 0-621-35471-6.
- John, D.M., B.A. Whitton et A.J. Brook. (2002).** The Freshwater Algal Flora of the British Isles: An Identification Guide to Freshwater and Terrestrial Algae. The Natural History Museum. Cambridge.
- Kaushik P., Chauhan A., Chauhan G., Goyal P. (2009).** Antibacterial potential and UV-HPLC analysis of laboratory-Grown culture of *Anabaena variabilis*. *Internet. J. Food. Saf.* 11: 11-18.
- Kerfouf A., Benyahia M., CharifK. (2008).** Diagnostic bio-sédimentaire et proposition d'aménagement du lac Sidi Mohamed Ben Ali (Sidi Bel Abbes, Algérie nord occidentale). *Hydrobiologia.* 25: 285-288.
- Kim J. D. (2006).** Screening of cyanobacteria (Blue-Green algae) from Rice Paddy soil for antifungal activity against plant pathogenic fungi. *Mycobiology.* 34 (3): 138-142.
- Komarek J. (2003).** Phenotype diversity of the cyanoprokaryotic genus *Cylindrospermopsis* (Nostocales); review 2002. *Czech Phycology.* 3: 1-30.
- Kreitlow S., Mundt S., Lindequist U. (1999).** Cyanobacteria- A potential source of new biologically active substances. *J. Biotech.* 70: 61-63.
- Kumar V., Bhatnagar A. K., Srivastava J. N. (2011).** Antibacterial activity of crude extracts of *Spirulina platensis* and its structural elucidation of bioactive compound. *Journal of Medicinal Plants Research.* 5 (32): 7043-7048.
- Lachassinne E Gaby W. L., Hadley C. (1957).** Practical laboratory test for the identification of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology.* 74 (3): 356-358.
- 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.
- Larato D. C., Pfau F. R. (1970).** Effects of a water-soluble chlorophyllin ointment on gingival inflammation. *New York state dental journal* 36(5) : 291-294. PubMed PMID: 4908977.

Références bibliographiques

- Lazaroff N., Vishniak W. (1961).** The effect of light on the development cycle of *Nostoc muscorum*, a filamentous blue-green alga. J. gen. Microbiol. 25 : 365-374.
- Leitão M., Coute A. (2005).** Guide pratique des cyanobactéries planctoniques du grand ouest de la France, Agence de l'eau Seine-Normandie. 31-45.
- Leray C. (2013).** Les lipides, nutrition et santé. Edition Lavoisier. 139.
- Madhumathi V., Deepa P., Jeyachandran S., Manoharan C., Vijayakumar S. (2011).** Antimicrobial activity of cyanobacteria isolated from freshwater lake. International Journal of Microbiological Research. 2 (3): 213-216. ISSN 2079-2093.
- Magnuson J. D., Robertson D. M., Benson B. J., Wynne R. H., Livingstone D. M., Arai T. (2000).** Historical trends in lake and river ice cover in the Northern Hemisphere. Science. 289: 1743-1746.
- Mahmood N. A., Carmichael W. W. (1987).** Anatoxin-a(s), an anticholinesterase from the cyanobacterium *Anabaena flosaquae* NRC-525-17. Toxicon. 25: 1221-1227.
- Marasneh I., Jamal M., Kashasneh M., Zibdeh M. (1995).** Antibiotic activity of marine algae against multiantibiotic resistant bacteria. Journal Microbios. 83: 23-26.
- McQuistan T. J., Simonich M. T., Pratt M. M. (2011).** Cancer chemoprevention by dietary chlorophylls: A 12,000-animal dose-dose matrix biomarker and tumor study. Food. Chem. Toxicol. 50 (2) : 341-52.
- Meplède J., Randon J. (2004).** 100 manipulations de chimie générale et analytique. Edition Bréal. 102-104.
- Mohamed S., Hashim S.N., Rahman A.H. (2012).** Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. Trends in Food Science & Technology. 23 : 83-96.
- Mollo P., Noury A. (2013).** Le Manuel du plancton. Edition Charles Léopold Mayer. 140.
- Monestier T. (2006).** La problématique cyanobactéries sur le bassin versant de la Dordogne : retenue de Bort les orgnes. Magister Environnement. Université Blaise Pascal. France. 12-13.
- Mule M. C. Z., Caire G. Z., Cano M. S., Halperin D. R. (1991).** Bioactive compounds from *Nostoc muscorum* (cyanobacteria). Cytobios. 66 : 169-172.
- Mundt S., Kreitlow S., Nowotny A., Effmert U. (2001).** Biological and pharmacological investigation of selected cyanobacteria. International Journal of Hygiene and Environment Health. 203: 327-334.
- Mur L. R., Gons H. J., Vanliere L. (1978).** Competition of the green alga *Scenedesmus* and the blue-green alga *Oscillatoria*. Mitt. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol. Verh. 21: 43-47.

Références bibliographiques

- Nagarajan M., Maruthanayagam V., Sundararaman M. (2012).** A review of pharmacological and toxicological potentials of marine cyanobacterial metabolites. *J. Appl. Toxicol.* 32: 153-185.
- Naveen B., Irshad M. D., Alam M., Tasneem F. (2013).** Antimicrobial and cytotoxic activities of cyanobacteria. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology.* 2 (9): 4328-4323.
- Neilan B. A., Pearson L. A., Moffitt M. C., Mihali K. T., Kaebernick M., Kellmann R., Pomati F. (2008).** The genetics and genomics of cyanobacterial toxicity. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 619: 417-452.
- Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R. (2000).** L'essentiel en microbiologie. Edition Berti. ed1. 365.
- Oberholster P.J., Botha A.M., Grobbelaar J.U. (2004).** *Microcystis aeruginosa*: source of toxic microcystins in drinking water. *AFR. J. Biothechnol.* 3 (3): 159-168.
- ONU. (2000).** L'avenir de l'environnement mondial. DeBoeck Université. 151-169.
- Oshima Y. (1995).** Post column derivatization liquid chromatography method for paralytic shell fish toxins. *J. AOAC Int.* 78: 528-352.
- Oowski A., Pietrzak M., Wieczorek Z., Wieczorek J. (2010).** Natural compounds in the human diet and their ability to bind mutagens prevents DNA-mutagen intercalation. *J. Toxicol. Environ. Health.* 73(17-18): 1141-9. PubMed PMID: 20706936.
- Oudra B. (2001).** Toxicologie des cyanobactéries (Algues bleues-vertes), cas d'espèces occasionnant des blooms toxiques dans différents milieux aquatiques du Maroc. Thèse de Doctorat d'état Es-Sciences, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech, MAROC. 118.
- Oudra B., Loudiki M., Vasconcelos V., Sabour B., Sbiyyaa B., Oufdou K., Mezrioui N. (2002).** Detection and quantification of microcystins in cyanobacterial strains isolated from lake-reservoirs and ponds in Morocco, *Environ. Toxicol.* 17(1): 32-39.
- Oufdou K., Oudra B. (2009).** Substances bioactives élaborées par des cyanobactéries isolées de certains écosystèmes aquatiques marocains. *Afrique Science* ISSN 1813-548X. 05(2) : 260-279.
- Ozdemir G., Karabay N., Dolay M., Pazarbasi B. (2004).** Antibacterial activity of volatile extracts of *Spirulina plantensis*. *Phytother. Res.* 18: 754-757.
- Parazols M. (2007).** Caractérisation physico-chimique et réactivité de la phase aqueuse des nuages prélevée au sommet du puy de Dôme. Thèse de doctorat en chimie. Université Blaise Pascal, France.

Références bibliographiques

- Patel G., Huprikar S., Factor S. H., Jenkins S. G., Calfee D. P. (2008).** Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 29(12): 1099-1106.
- Patra J. K., Rath S. K., Jena K., Rathod V. K. (2008).** Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of Seaweed (*Sargassum* sp.) extract: A study on inhibition of Glutathione-S-Transferase Activity. *Turkish Journal of Biology.* 32(2): 119-125.
- Patterson G. M. L., Larsen L. K., Moore R. E. (1994).** Bioactive natural products from blue-green algae. *J. Appl. Phycol.* 6: 151-157.
- Pearson L., Mihali T., Moffitt M., Kellmann R., Neilan B. (2010).** On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin. *Marine Drugs.* 8 (5): 1650-1680.
- Pebret F. (2003).** Maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Heures de France. 223-236.
- Person J. (2011).** Algues, filières du futur. Edition Ade biotech. 4-59.
- Prashantkumar P., Angadi S., Vidyasagar G. (2006).** Antimicrobial activity of blue green and green algae. *I. J. Pharm. Sci.* 68 (5): 647-648.
- Prescott L. M., Haley J. P., Klein D. A. (2003).** Microbiologie. De Boeck Université, 2ème éd. Française, traduit de la 5ème édition américaine (2002). 210-260.
- Priyadharshini R., Ambikapathy V., AndPavai T. (2013).** Invitro antimicrobial activity of *Oscillatoria angustissima*. *International Journal of Advanced Research.* 1(4): 60-68.
- Proschold T., Leliaert F. (2007).** Systematics of the green algae: conflict of classic and modern approaches In Brodie. CRC Press, Taylor & Francis Group. The Systematics Association. 45.
- Quemerais P. (2005).** Synthèse : La gestion de l'eau dans les pays en développement. *Journal de Montréal.* 86-91.
- Rajaniemi P., Hrouzek P., Kaštovská K., Willame R., Rantala A., Hoffmann L. (2005).** Phylogenetic and morphological evaluation of the genera *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Trichormus* and *Nostoc* (Nostocales, Cyanobacteria). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 55 (1): 11-26.
- Ramachandra Rao C.S.V. (1994).** Antimicrobial activity of cyanobacteria. *Indian J. Mar. Sci.* 23: 55-56.
- Raven P. H., Evert R. F., Eichhorn S. E. (2000).** Biologie végétale, Traduction de la 6 e édition américaine par J. Bouharmont avec la collaboration de C.M. Evrard, 1 ère édition, De Boeck Université, Paris-Bruxelles. 944

Références bibliographiques

- Reeves M. W., Evins G. M., Heiba A. A., Plikaytis B. D., Farmer J. J. (1989).** Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other salmonella as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori*. comb. nov. J. Clin. Microbiol. 27(2): 313-320.
- Reguieg K. (2014).** Etude de la qualité physico-chimique des eaux de barrage Sarno (Wilaya de Sidi Bel Abbes) et évaluation statistique. Mémoire Magister. Université Sidi Bel Abbes. Algérie.
- Reynolds C. S., Jaworski G. H. M., Cmiech H. A., Leedale G. F. (1981).** On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. London. 419-477.
- Rippka R. (1988).** Isolation and purification of cyanobacteria. Methods Enzymol. 167 : 3-27.
- Rippka R., Deruelles J., John B., Michael H., Stanier H. (1979).** Generic assignments, strain histories and properties of pure culture of cyanobacteria. Journal of General Microbiology. 111: 1-61.
- Robarts R. D., Zohary T. (1987).** Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research. 21: 391-399.
- Robert D. (2013).** *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM): généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Angers, France.
- Rodier J., Legube B., Merlet N. (2009).** L'Analyse de l'Eau. 9^e édition Dunod, Paris. 579.
- Rzymiski P., Poniedzialek B. (2012).** Dermatotoxins synthesized by blue-green algae (Cyanobacteria). Postepy Dermatol Alergol. 29: 47-50.
- Sakthivel K., Kathiresan K. (2012).** Antimicrobial activities of marine cyanobacteria isolated from mangrove environment of south east coast of India. Journal of Natural Products. 5: 147-156.
- Saoudi A. (2008).** Isolement, culture de la toxicité des efflorescences à *Microcystis sp.* du barrage Mexa (El Taref). Mémoire de magister. Université Badji Mokhtar, Annaba. Algérie. 19-26.
- Satsry V. M. V. S., Rao G. R. K. (1994).** Antibacterial substances from marine algae: Successive extraction using benzene, chloroform and methanol. Botanica Marina. 37(4):357-360.
- Seckbach J. (2007).** Algae and cyanobacteria in extreme environments. Cyanobacteria. Springer Science & Business Media. 659-680.

Références bibliographiques

- Se-kwon K. (2015).** Handbook of anticancer drugs from marine origin. Springer. 190.
- Serediak N., Linh Huynh M. (2011).** Identification des algues : guide de laboratoire. Agriculture et Agroalimentaire Canada, Direction générale des services agroenvironnementaux. ISBN 978-1-100-97036-3.
- Sguera S. (2008).** *Spirulina platensis* et ses constituants, intérêts nutritionnels et thérapeutiques. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1. France.
- Shweta Y., Sinha R. P., Tyagi M. B., Ashoukkumar (2011).** Cyanobacterial secondary metabolites. Int. J. Pharm. Bio. Sci. 2 (1): 144-167.
- Sigee D. C. (2005).** Freshwater microbiology: Bio-diversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment. John Wiley and Sons. 133-160.
- Silvano J. (2005).** Toxicité des cyanobactéries d'eau douce vis-à-vis des animaux domestiques et sauvages. Thèse de doctorat. École nationale vétérinaire de Lyon, Lyon. France. 116.
- Sivonen K., Jones G. (1999).** Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. World Health Organisation. 41-58.
- Stanier R. Y., Kunisawa R., Mandel M., Cohen-Bazire G. (1971).** Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). Bacteriol Rev. 35(2) : 171-205.
- Stanier R.Y., Sistrom W.R., Hansen T.A., Whitton B.A., Castenholz R.W., Pfennig N. (1978).** Proposal to place the nomenclature of the cyanobacteria (blue-green algae) under the rules of the international Code of Nomenclature of bacteria. Int. J. Syst. Bacteriol. 28: 335-336.
- Stanway P. (2013).** The Miracle of Tea: Practical Tips for Health, Home and Beauty. Duncan Baird Publishers. 88.
- Steinitz Kannan M., Lenca N. (2013).** Field guide to algae and other "scums" in ponds, lakes, Northern Kentucky University.
- Stewart I., Schluter P.J., Shaw G.R. (2006).** Cyanobacterial lipopolysaccharides and human health. Environ. Health. 5-29.
- Sudbery P., Gow N., Berman J. (2004).** The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. Trends Microbiol. 12: 317-324.
- Tanabe Y., Kasai F., Watanabe M. M. (2007).** Multi locus sequence typing (MLST) reveals high genetic diversity and clonal population structure of the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Microbiology. 153 (11): 3695-3703.
- Tilzer M. M. (1987).** Cyanobacterial dominance. J. Freshw. Res. 21: 401-412.

Références bibliographiques

- Tiwani A., Sharma A. (2013).** Antifungal activity of *Anabeana variabilis* against plant pathogens. Int J. Pharm. Bio Sci; 4(2): 1030-1036.
- Tuney I., Carditci B., Dunal, Sukatar A. (2006).** Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir, Turkey). Turk. J. Biol., 30: 171-175.
- Van Apeldoorn M. E., Van Egmond H. P., Speijers G. J., Bakker G. J. (2007).** Toxins of cyanobacteria. Mol. Nutr. Food Res. 51 (1): 7-60.
- VanLiere L., Walsby A. E. (1982).** The biology of cyanobacteria: Interactions of cyanobacteria with light. Edition Carr, N.G. et Whitton B.A. 9-45.
- Weyhenmeyer G. A. (2001).** Warmer winters: Are planktonic algal populations in Sweden's largest lakes affected. Ambio. 30: 565-571
- Wray C., Sojka W. J. (1978).** Experimental *Salmonella typhimurium* infection in calves. Research in Veterinary Science. 25 (2): 139-143.
- Xie L., Xie P. (2002).** Long-term (1956-1999) dynamics of phosphorus in a shallow, subtropical Chinese lake with the possible effects of cyanobacterial blooms. Water. Res. 36: 343-349.
- Yamazaki H., Fujieda M., Togashi M., Saito T., Preti G., Cashman JR., Kamataki T. (2004).** Effects of the dietary supplements, activated charcoal and copper chlorophyllin, on urinary excretion of trimethylamine in Japanese trimethylaminuria patients. Life. Sci. 74(22): 2739-47. PubMed PMID: 15043988.



“ Annexes ”

Annexe 1 : Composition des milieux de culture

Composition de milieu BG 11

NaNO ₃	1.5 g
K ₂ HPO ₄	0.31 g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.075 g
CaCl ₂ , 2H ₂ O	0.036 g
Acide citrique	0.006 g
Citrate ferrico-ammonique	0.006 g
EDTA	0.001 g
Na ₂ CO ₃	0.02 g
Solution d'oligoéléments	1 ml
Eau distillée	1 l
PH	7.1
Agar-agar	7 g

Solution trace

H ₃ BO ₃	2.86 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	1.81 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.222 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.390 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.0729 g
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.0494 g
Eau distillée	1 l

Gélose PDA

Agar-agar	20 g
Pomme de terre épluchée	200 g
Glucose	10 g
Eau distillée qsp	1 l
pH	7.0 ± 0.5 à 25°C

Annexes

Gélose nutritive

Extrait de viande	1 g
Extrait de levure	2 g
Peptone	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar-agar	15 g
Eau distillée qsp	1 l
pH	7,4

Gélose Sabouroud

Peptone	10 g
Glucose	20 g
Agar-agar	15 g
Eau distillée qsp	1 l
pH	6

Mueller Hinton

Hydrolysât acide de caséine	17,5 g
Infusion de viande	2 g
Amidon soluble	1,5 g
Agar-agar	17 g
PH	7,3

Bouillon nutritif

Tryptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Eau distillée	1 l

Annexe 2 : Préparation de la solution de citrate de fer ammoniacal.

La préparation de 30 g de la variété brune de citrate de fer ammoniacal nécessite, 65% d'acide citrique qui correspond à 19.5 g, 18 % de fer qui correspond à 5.4 g et 9 % d'ammoniaque donc 2.7 g de NH_3 ou 11.25 ml de NH_4OH à 25 %.

Préparation de l'hydroxyde de fer (III)

On mélange 22.5 g de $\text{Fe}_2\text{SO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$ dans 200 ml d'eau distillée, agiter bien. Dans un bocal de 600 ml, on mélange cette solution avec 100 ml de H_2O_2 à 3 %, la solution verte devient brune il y'a la formation de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_2, \text{H}_2\text{O}$. Par la suite on ajoute 3.19 g de NaOH et on chauffe la solution, cette dernière est ensuite filtré à l'aide de papier Watman.

Préparation de la solution de citrate de fer ammoniacal

Une fois $\text{Fe}(\text{OH})_3$ récupéré, on prend 5.4 gr de cette poudre et on ajoute 19.5 g d'acide citrique et 11.25 ml d'ammoniac NH_4OH à 25%.

Préparation de H_2O_2 à 3 % à partir de H_2O_2 à 10 %

Pour la préparation de 100 ml de H_2O_2 à 3 %, on prend 30 ml d'eau oxygénée à 10 % et on complète le volume jusqu'à 100 ml d'eau distillée.

Annexe 3 : Fiche de collecte de données.

Nom du plan d'eau : SMB.

Date et heure du prélèvement : 07/07/2014 à 10h.30 min.

N° du site : **01.**

T eau	T air	PH	P/DS	Fleur d'eau	Odeur inhabituelle	Ensoleillement			Force du vent		
19°C	25°C	7	125	ABSENTE	ABSENTE	+	+/-	-	Calme	Léger	Fort

Remarque personnelle

.....

.....

.....

Etiquette comportant la codification des échantillons d'eau

SMB- Site 1- 07/07/2014 (*Silvano et al., 2005*).

Annexe 4 : Fabrication et méthode d'utilisation du disque de Secchi.

Le disque de Secchi est un outil très simple que l'on peut utiliser pour obtenir une meilleure estimation de la transparence de l'eau.

Fabrication du disque de Secchi

Découper un disque d'environ 25 cm de diamètre (morceau de métal) puis tracez dessus deux lignes de façon à obtenir quatre quartiers, Peignez ces quartiers en blanc et en noir avec une peinture mate pour éviter les reflets, percer un petit trou au centre du disque. Faite passer par ce trou un fil ou un morceau de corde. Attacher au-dessous du disque un petit pois (une pierre) puis attacher le disque à l'extrémité du fil, contre le pois.

Utilisation du disque de Secchi

On fait descendre doucement le disque dans l'eau et on arrête lorsqu'on commence à ne plus le voir. On note le point où le file coupe la surface de l'eau (point A). Après avoir noté l'endroit le long du fil ou le disque disparaît, on abaisse le légèrement et on remonte le disque jusqu'à ce qu'il réapparaisse (point B). Le point C se situe à mi-chemin entre le point A et le point B. Mesurer la transparence de l'eau qui correspond à la distance entre la partie supérieure du disque et le point C.



Photo du disque de Secchi

Annexe 6 : Fabrication d'un Incubateur Artisanal.

Nous avons procédé à la fabrication d'un incubateur artisanal de longueur de 100 cm, de largeur de 60 cm et de hauteur de 60 cm, L'incubateur est constitué de deux parois en PVC, ou on a mis de la laine de verre entre ces deux parois pour permettre l'isolation thermique.

La température est contrôlée à l'aide d'une sonde qui est fixé à l'intérieur de l'incubateur, l'affichage de la température se fait à l'aide d'un afficheur qui est fixé au dessus de l'incubateur.

Une résistance de puissance de 50 watt est fixé à l'intérieur de l'incubateur, quand la température chute au dessus de 25°C la résistance se déclenche. Un système de refroidissement est installé à la face arrière de l'incubateur, si la température augmente au-delà de 25°C, le système de refroidissement se déclenche.

Une source de lumière qui représente une intensité de 2000 lumens, pour cela l'incubateur est muni de deux tube fluorescent de lumière blanche chaque tube a une intensité lumineuse de 1000 lumens pour donner une luminosité de 2000 lumens.

Une minuterie est réglée pour avoir une photopériode de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité.