

République Algérienne Démocratique et Populaire

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologique



Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de

**MASTER ACADEMIQUE**

**Domaine :** Science de la Nature et de la Vie

**Filière :** Biologie

**Spécialité :** Microbiologie Appliquée

**Présente par :**

**BOUGOFFA Samira**

**HAMIDI Aicha**

**Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait de la spiruline  
(*Spirulina platensis*) sur différentes souches pathogènes dans la  
région de Ouargla.**

**Soutenu publiquement le : 04/10/2020**

**Devant le jury :**

|              |                            |                        |
|--------------|----------------------------|------------------------|
| Président    | Mr. SEGGAÏ A.              | M.A.A U.K.M. Ouargla   |
| Examinatrice | Mme. FERHATI H.            | M.A.A U.K.M Ouargla    |
| Promoteur    | Mme. OULD ELHADJ-KHELIL A. | Pr. U.K.M Ouargla      |
| CO-Promoteur | Mlle. BELDI N.             | M.C. B. U.K.M. Ouargla |

**Année universitaire : 2019/2020**

## Remerciements

Tout d'abord nous tenons à remercier **Allah** le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté de terminer ce travail.

Nous tenons particulièrement à remercier notre encadreur **Mme OULD EL HADJ KHELIL AMINATA** Professeur à U.K.M. Ouargla pour ses conseils, ses commentaires et sa bienveillance. Qu'elle soit assurée de notre profonde gratitude pour nous avoir guidé et aidé tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nos vifs remerciements vont également à notre Co-promotrice **Melle BELDI NADIA M.C.B.** à U.K.M. Ouargla pour son aide, ses orientations et ses conseils qu'elle nous a prodigués.

Nous exprimons nos vifs remerciements à **M. SEGGAI ALI M.A.A** à U.K.M. Ouargla pour nous avoir fournis la souche de Spiruline « *Spirulina platensis* » Et pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Nous remercions vivement **Mme FERHATI HADDA M.A.A** à U.K.M Ouargla qui nous fait l'honneur et le plaisir d'examiner ce modeste travail.

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

A toute l'équipe du laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'U.K.M Ouargla.

Nous remercions nos collègues et nos amies et tous ce qui nous ont aidés pendant notre travail.

## Table des matières

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| Introduction                                                   | 01 |
| <b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>                                  |    |
| <b>Chapitre I : Présentation de la spiruline</b>               |    |
| I.1. Généralités                                               | 04 |
| I.1.1. Description                                             | 04 |
| I.1.2. Classification taxonomique                              | 04 |
| I.1.3. Morphologie                                             | 05 |
| I.1.4. Reproduction                                            | 06 |
| I.1.5. Répartition géographique                                | 07 |
| I.2. Composition de la spiruline                               | 07 |
| I.2.1. Protéines                                               | 08 |
| I.2.2. Glucides                                                | 08 |
| I.2.3. Lipides                                                 | 09 |
| I.2.4. Minéraux                                                | 09 |
| I.2.5. Vitamines                                               | 10 |
| I.2.6. Enzymes                                                 | 11 |
| I.2.7. Pigments                                                | 11 |
| I.2.7.1. Chlorophylle                                          | 11 |
| I.2.7.2. Phycocyanine                                          | 12 |
| I.2.7.3. Béta-carotène                                         | 12 |
| I.2.8. Acides nucléiques                                       | 13 |
| I.3. Principales applications de la spiruline                  | 13 |
| I.3.1. En alimentation humaine                                 | 13 |
| I.3.2. En alimentation animale                                 | 14 |
| I.3.3. En cosmétique                                           | 14 |
| I.3.4. En thérapeutique                                        | 15 |
| <br><b>Chapitre II : Activités biologiques de la spiruline</b> |    |
| II.1. Activités biologiques de la spiruline                    | 16 |
| II.1.1. Activité anti-oxydante                                 | 16 |
| II.1.2. Activité antimicrobienne                               | 16 |
| II.1.2.1. Activité antibactérienne                             | 16 |
| II.1.2.2. Activité antivirale                                  | 17 |
| II.1.3. Activité anti-inflammatoire                            | 17 |
| II.1.4. Activité anti-toxicité                                 | 18 |
| II.1.5. Activité anticancéreuse                                | 18 |
| II.2. Type et source des antimicrobiens                        | 19 |
| II.3. Composés phénoliques                                     | 19 |
| II.3.1. Classes des polyphénols                                | 20 |
| II.3.1.1. Acides phénols simples                               | 21 |
| II.3.1.2. Flavonoïdes                                          | 21 |
| II.3.1.3. Tanins                                               | 21 |
| II.4. Composés terpéniques                                     | 21 |
| II.5. Alcaloïdes                                               | 22 |
| II.6. Mécanisme d'action des métabolites secondaires           | 23 |

## **Chapitre III : Culture de la spiruline**

|                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------|----|
| 1. Milieu et conditions de culture                        | 24 |
| 1.1. Milieu de culture                                    | 24 |
| 1.2. Conditions optimales de culture                      | 24 |
| 1.3. Facteurs influençant la productivité de la spiruline | 25 |
| 2. Mode de culture                                        | 26 |
| 3. Différentes étapes de la production de la spiruline    | 26 |
| 3.1. Démarrage                                            | 26 |
| 3.2. Fertilisation et entretien                           | 27 |
| 3.3. Récolte                                              | 27 |
| 3.3.1. Filtration                                         | 27 |
| 3.3.2. Pressage                                           | 28 |
| 3.3.3. Extrusion                                          | 28 |
| 3.3.4. Séchage                                            | 28 |
| 3.3.5. Broyage et mise en conditionnement                 | 28 |
| 4. Processus simplifié de la production de spiruline      | 29 |
| 5. Suivi biologique de la culture                         | 31 |
| 5.1. Observation macroscopique                            | 31 |
| 5.2. Observation microscopique                            | 32 |

## **PARTIE PRATIQUE**

### **Chapitre IV : matériels et méthodes**

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| IV.1. Matériels                                                                     | 33 |
| IV.1.1. Matériel biologique                                                         | 33 |
| IV.1.1.1. Origine des souches de spiruline                                          | 33 |
| IV.1.1.2. Microorganismes testés                                                    | 34 |
| IV.2. Méthodes                                                                      | 34 |
| IV.2.1. Extraction des composés phénoliques par macération hydro-alcoolique         | 34 |
| IV.2.1.1. Calcul des rendements d'extraction                                        | 35 |
| IV.2.2. Tests phytochimiques                                                        | 37 |
| IV.2.3. Préparation des cultures bactériennes                                       | 38 |
| IV.2.3.1. Préparation des cultures pures de 24 heures                               | 38 |
| a-Revivification des souches                                                        | 38 |
| b-Repiquage                                                                         | 39 |
| IV.2.3.2. Normalisation des micro-organismes                                        | 39 |
| IV.2.4. Activités antibactériennes de l'extrait de spiruline                        | 39 |
| IV.2.4.1. Principe de la méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne         | 39 |
| a) Méthode de diffusion sur disques                                                 | 39 |
| b) Méthode de diffusion sur puits                                                   | 40 |
| IV.2.4.2. Préparation des extraits de la spiruline de différentes concentrations    | 40 |
| IV.2.4.3. Activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque en papier | 40 |
| a) Préparation des disques imbibés de spiruline                                     | 40 |
| b) Application des disques et lecture                                               | 41 |
| IV.2.4.4. Activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur puits d'agar     | 41 |

## **Chapitre V : Résultats et discussion**

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| V.1. Résultats                                                                | 44 |
| V.1.1. Identification des deux souches de la spiruline                        | 44 |
| V.1.2. Couleurs et rendements d'extraction                                    | 45 |
| V.1.3. Tests phytochimiques                                                   | 45 |
| V.1.4. Activité antibactérienne des extraits de la spiruline                  | 49 |
| V.1.5. Comparaison entre l'effet de la spiruline et l'effet des antibiotiques | 55 |
| V.2. Discussion                                                               | 61 |
| Conclusions                                                                   | 64 |
| Références bibliographiques                                                   |    |

## **Annexes**

## *Liste des figures*

| <b>Figures</b>                                                                                                                      | <b>Page</b> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Figure 01</b> : Cycle biologique de la reproduction de la spiruline.                                                             | 07          |
| <b>Figure 02</b> : Composition chimique moyenne de la spiruline.                                                                    | 08          |
| <b>Figure 03</b> : Différentes étapes de production de la spiruline.                                                                | 29          |
| <b>Figure 04</b> : Processus simplifié de la production de spiruline.                                                               | 30          |
| <b>Figure 05</b> : Protocole d'extraction hydrométhanolique à partir de la poudre de spiruline des extraits bruts par macération.   | 36          |
| <b>Figure 06</b> : Activité antibactérienne des extraits de la spiruline.                                                           | 43          |
| <b>Figure 07</b> : Effet des extraits de <i>Spirulina plantensis</i> sur trois bactéries à Gram positif.                            | 53          |
| <b>Figure 08</b> : Effet des extraits de <i>Spirulina plantensis</i> sur trois bactéries à Gram négatif.                            | 53          |
| <b>Figure 09</b> : Effet des extraits de <i>Spirulina plantensis</i> comparés aux antibiotiques sur <i>Staphylococcus aureus</i> .  | 55          |
| <b>Figure 10</b> : Effet des extraits de <i>Spirulina plantensis</i> comparés aux antibiotiques sur <i>Bacillus cereus</i> .        | 56          |
| <b>Figure 11</b> : Effet des extraits de <i>Spirulina plantensis</i> comparés aux antibiotiques sur <i>Bacillus subtilis</i> .      | 57          |
| <b>Figure 12</b> : Effet des extraits de <i>Spirulina plantensis</i> comparés aux antibiotiques sur <i>Escherichia coli</i> .       | 58          |
| <b>Figure 13</b> : Effet des extraits de <i>Spirulina plantensis</i> comparés aux antibiotiques sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . | 59          |
| <b>Figure 14</b> : Effet des extraits de <i>Spirulina plantensis</i> comparés aux antibiotiques sur <i>Klebsiella sp.</i>           | 60          |

### ***Liste des tableaux***

|                   |                                                                                                 |    |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau 01</b> | Composition en minéraux de la Spiruline et doses requises.                                      | 10 |
| <b>Tableau 02</b> | Teneur en vitamines de la matière sèche de Spiruline.                                           | 11 |
| <b>Tableau 03</b> | Teneurs en pigments exprimées en mg pour 10g de matière sèche de <i>Spirulina platensis</i> .   | 12 |
| <b>Tableau 04</b> | Structure des squelettes des polyphénols.                                                       | 20 |
| <b>Tableau 05</b> | Activités biologiques de quelques composés phénoliques.                                         | 22 |
| <b>Tableau 06</b> | Différentes productions de spiruline et leurs caractéristiques.                                 | 26 |
| <b>Tableau 07</b> | Couleurs du milieu de culture avec leur signification.                                          | 31 |
| <b>Tableau 08</b> | Souches bactériennes utilisées dans l'étude.                                                    | 34 |
| <b>Tableau 09</b> | Rendement de l'extraction.                                                                      | 45 |
| <b>Tableau 10</b> | Résultats des tests phytochimiques réalisés sur la spiruline                                    | 46 |
| <b>Tableau 11</b> | Résultats des tests phytochimiques de <i>Spirulina platensis</i> des études précédentes.        | 48 |
| <b>Tableau 12</b> | Diamètres des zones d'inhibition des extraits de la spiruline sur les six souches bactériennes. | 50 |

### ***Liste des photos***

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Photo 01</b> : Aspect microscopique de la spiruline.                                                     | 04 |
| <b>Photo 02</b> : Différents aspects de la spiruline.                                                       | 06 |
| <b>Photo 03</b> : Aspects macroscopique des souches de la spiruline utilisée dans l'étude.                  | 33 |
| <b>Photo 04</b> : Cellules de <i>Spirulina platensis</i> souche tchadien observées au microscope optique.   | 44 |
| <b>Photo 05</b> : Cellules de <i>Spirulina platensis</i> souche algérienne observées au microscope optique. | 44 |
| <b>Photo 06</b> : Tests phytochimiques de <i>Spirulina platensis</i> (souche tchadienne).                   | 47 |

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

La résistance bactérienne est le principal facteur responsable de l'augmentation de la morbidité, de la mortalité et des coûts des soins de santé liés aux infections bactériennes (**Mala et al., 2009**).

Les infections microbiennes sont l'une des principales causes de décès et de différents problèmes de santé dans le monde. Les infections du tractus intestinal, y compris la diarrhée et la gastro-entérite, sont courantes et touchent des personnes de tous âges (**Ali et Doumandji, 2017**).

La prévention des flambées de maladies d'origine bactérienne ou le traitement de ces maladies avec des médicaments ou des produits chimiques seuls peuvent ne pas être suffisants pour résoudre ces problèmes car les microorganismes développent en continu une résistance contre les médicaments chimiques appliqués. Il devient de plus en plus difficile de traiter les bactéries pathogènes résistantes (**Arun et al., 2012**).

La majorité des médicaments antimicrobiens utilisés en clinique présentent des inconvénients tels que la toxicité, le manque d'efficacité, le coût et leur utilisation fréquente conduisant à l'émergence de souches résistantes (**El-Monem et al., 2018**).

Il existe donc un besoin urgent de développer des agents biodégradables alternatifs, qui devraient être exempts d'effets secondaires. Les composés naturels biodégradables sont plus acceptables sur le plan environnemental (**El-Monem et al., 2018**).

Les microalgues étant une riche source de nouveaux composés bioactifs, ont récemment trouvé une immense application en médecine humaine et animale. Une stratégie prometteuse pour le remplacement des produits chimiques antibactériens et antifongiques consiste à promouvoir les produits de lutte biologique naturels obtenus à partir de ces microalgues (**Arun et al., 2012**).

L'attention se concentre désormais sur les composants naturels produits par les organismes aquatiques, les cyanobactéries sont des sources potentielles de produits chimiques et pharmaceutiques de grande valeur (**Elshouny et al., 2017**).

La cyanobactérie *Spirulina platensis*, est devenue l'un des agents les plus prometteurs pour synthétiser potentiellement de nouveaux composés thérapeutiques. Elle est connue pour produire des métabolites intracellulaires et extracellulaires avec diverses activités biologiques telles que des activités antifongiques et antibactériennes (**Elshouny et al., 2017**).

Les extraits cellulaires et les constituants actifs de diverses algues ont démontré une activité antibactérienne *in vitro* contre les bactéries Gram positif et Gram négatif (**Ahmed, 2016**).

L'extrait de spiruline contient des composés bioactifs comprenant la phycocyanine, le phénolique, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les flavonoïdes (**Setyaningsih et al., 2020**).

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'intérêt potentiel que présente cette micro algue, après avoir documenté plusieurs ouvrages portant sur la singularité biologique de la spiruline et les propriétés des molécules qui la caractérisent.

Le présent travail s'inscrit donc dans le cadre de la recherche et la valorisation des substances bioactives naturelles contenues dans la spiruline. Notre étude, dans son but, rejoint plusieurs travaux antérieurs visant à la valorisation des substances bioactives naturelles contenues dans la spiruline ayant des propriétés antimicrobiennes ; il s'agit notamment de **Rao et al., 2010 ; Usharani et al., 2015 ; Ali et Doumandji, 2017 ; El-Monem et al., 2018**.

Nous cherchons à travers notre étude à répondre aux questions suivantes :

- Quelles sont les composés bioactifs contenus dans l'extrait de la spiruline ?
- Quel est le meilleur solvant pour extraire les composés bioactifs et quelle est la meilleure méthode d'antibiogramme qui peut être utilisée ?
- A travers la comparaison des résultats obtenus avec les résultats des antibiotiques, peut-on considérer la spiruline comme un agent antimicrobien ? et contre quelle bactérie ?

**L'objectif de l'étude consisté à :**

- ✓ Etudier l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-méthanolique de *Spirulina platensis* vis-à-vis de quelques souches pathogènes et comparer ces résultats avec les résultats des antibiotiques.
- ✓ Evaluer l'efficacité de deux techniques, les plus utilisés pour la détermination de l'activité antibactérienne des extraits de spiruline et de comparer les résultats dans le but de savoir la méthode la plus efficace du point de vue précision et simplicité.

Ce travail comporte cinq chapitres : le premier chapitre est une présentation de la spiruline, le deuxième chapitre porte sur les activités biologiques de la spiruline, le troisième chapitre est sur la culture de la spiruline, ensuite le quatrième chapitre est sur les matériels et les méthodes employées et enfin le cinquième chapitre est sur les résultats avec leur discussion.

*PARTIE*

*BIBLIOGRAPHIQUE*

*CHAPITRE I :*  
*PRÉSENTATION DE LA*  
*SPIRULINE*

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

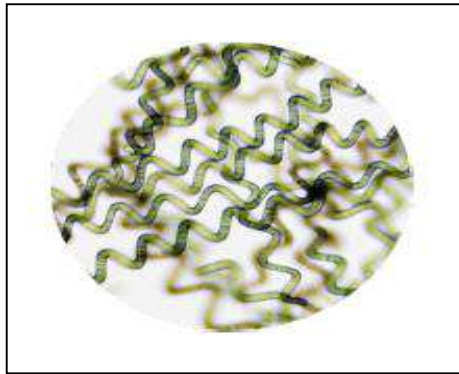
### CHAPITRE I : PRÉSENTATION DE LA SPIRULINE

#### I.1. GÉNÉRALITÉS

##### I.1.1. Description

Il y a 3,6 milliards d'années, durant le précambrien, les cyanobactéries, considérées comme premières formes de vie sont apparues sur terre, parmi lesquelles, une micro algue bleue appelée la spiruline (**Manet, 2016**).

La spiruline ou *Spirulina platensis* (*S. platensis*), pousse principalement dans les lagons et les lacs des zones tropicales, dont le sous-sol ou le terrain volcanique enrichit les eaux de sels minéraux. Elle doit son nom à sa forme en spirale comme le montre l'image ci-dessous (**Barth et Leo, 2019**).



**Photo 01** : Aspect microscopique de la spiruline (**Barth et Leo, 2019**).

La spiruline est un organisme autotrophe photosynthétique contenant le pigment bleu phycocyanine comme pigment photosynthétique principal en plus du pigment vert chlorophylle a, ce qui donne la couleur bleu-vert des cellules. La spiruline est l'une des microalgues filamenteuses non-ramifiées multicellulaires non hétérocystes qui sont reconnaissables à l'hélice unique ouverte à gauche sur toute la longueur du filament (**Soni et al., 2017 ; Shao, 2018**).

##### I.1.2. Classification taxonomique

La classification systématique de la spiruline a été étudiée par plusieurs auteurs. Considérée comme une algue à l'origine, une désignation finale en tant que cyanobactérie a été adoptée et acceptée par la suite pour figurer au «Bergey's Manual of Determinative Bacteriology» (**Goulambasse, 2018**).

D'un point de vue taxonomique, la spiruline s'y voit appartenir par les systématiciens au :

|                        |                                                                        |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Règne :                | <i>Monera</i>                                                          |
| Groupe ou Sous Règne : | <i>Procaryotes</i>                                                     |
| Embranchement :        | <i>Cyanophyta</i>                                                      |
| Classe :               | <i>Cyanophyceae</i>                                                    |
| Ordre :                | <i>Nostocales</i> (ou <i>Oscillatoriales</i> )                         |
| Famille :              | <i>Oscillatoriaceae</i>                                                |
| Genre :                | <i>Oscillatoria</i>                                                    |
| Sous genre :           | <i>Spirulina</i> ou <i>Arthrospira</i> ( <b>Charpy et al., 2008</b> ). |

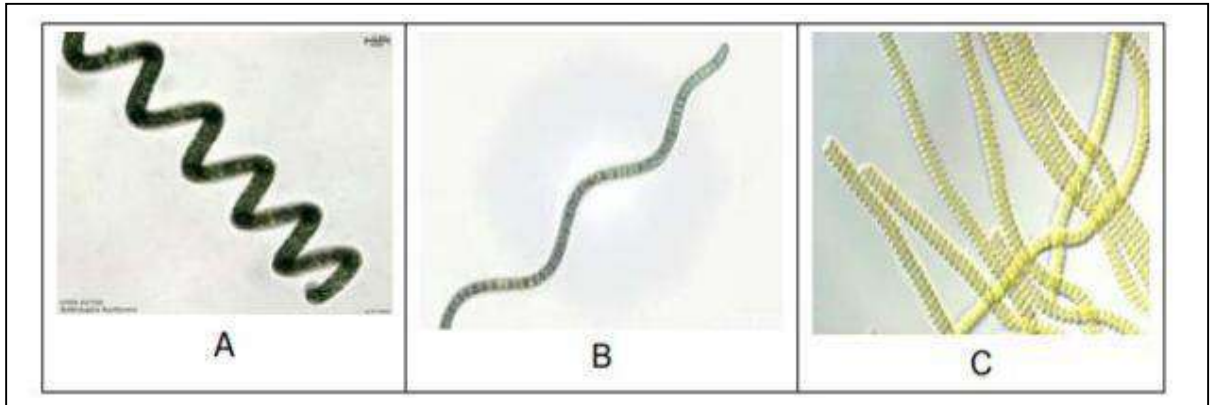
Les deux espèces les mieux connues sont *Spirulina platensis* (*S. platensis*), originaire d'Afrique et *Spirulina maxima* (*S. Maxima*) originaire d'Amérique centrale (**Sguera, 2008**).

### **I.1.3. Morphologie**

La Spiruline a une longueur moyenne de 250  $\mu\text{m}$  quand elle possède 7 spires. Elle est composée de filaments mobiles (de 10 à 12  $\mu\text{m}$  de diamètre) non ramifiés et enroulés en spirales, généralement en 6 ou 7 spires, qui ressemble à un minuscule ressort à boudin, d'où le nom de «Spiruline» (**Geitler, 1932 en Jarisoa, 2005**).

Plus précisément, la Spiruline est constituée de cellules transparentes empilées bout à bout formant ainsi un filament ou trichome. L'enroulement du trichome sur lui-même s'effectue suivant le sens des aiguilles d'une montre lorsqu'on regarde au-dessus de la spirale. Les facteurs environnementaux tels que la température auraient cependant une influence sur l'orientation de l'hélice, (**Muhling et al., 2003, en Jarisoa, 2005**). Les filaments de *Spirulina* sont motiles, se déplaçant souvent par des mouvements en vrilles à plus de 5  $\mu$  par seconde, sa motilité lui sert à se protéger des expositions trop fortes au soleil (**Fox, 1999**).

Se présentant généralement sous différentes formes, "spiralées", "ondulées", et "droites" (**Vicente, 2012**). Cette particularité de forme est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat (**Charpy et al., 2008**) ( **Photo 02**).



**Photo 02 :** Différents aspects microscopiques de la spiruline (Vicente, 2012).

(A) forme spiralée, (B) forme ondulées, et (C) forme droite

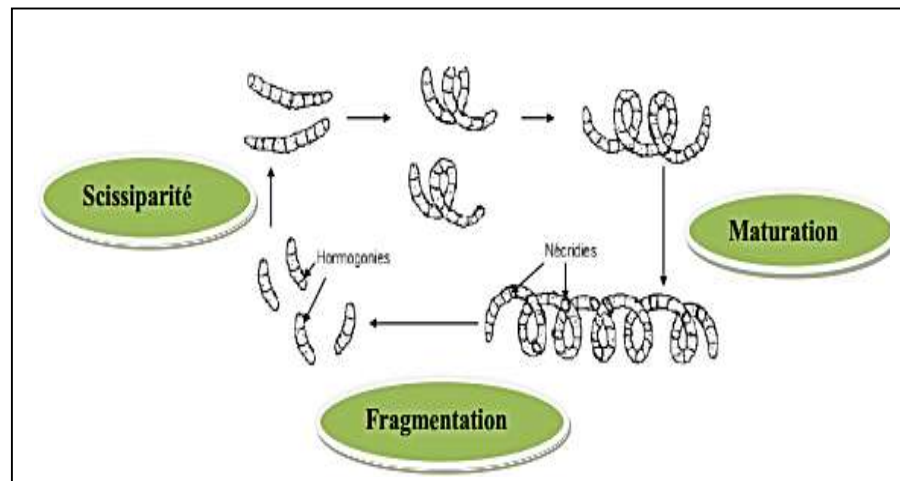
C'est une procaryote vrai, Elle est de type Gram négative. Malgré son système énergétique photosynthétique (Vicente, 2008).

#### **I.1.4. Reproduction**

La spiruline se développe de 25% chaque jour, sa quantité doublant en 4 jours (Dargent, 2009).

La spiruline se reproduit suivant un mode végétatif, une multiplication asexuée qui suit le principe de la bipartition par scission simple. C'est donc une segmentation des filaments qui s'effectue en plusieurs étapes :

- ✓ Une fois la maturité atteinte, les filaments de la spiruline forment des nécridies, des cellules ayant un aspect concave.
- ✓ Il s'ensuit une fragmentation du trichome à partir des nécridies aboutissant à de nouveaux filaments constitués de 2 à 4 cellules appelées hormogonies. Ces derniers croissent par division binaire et prennent la forme typique hélicoïdale, chacune des cellules donne deux cellules par scissiparité (Figure 01) (Manet, 2016).



**Figure 01** : Cycle biologique de la reproduction de la spiruline (Charpy *et al.*, 2008).

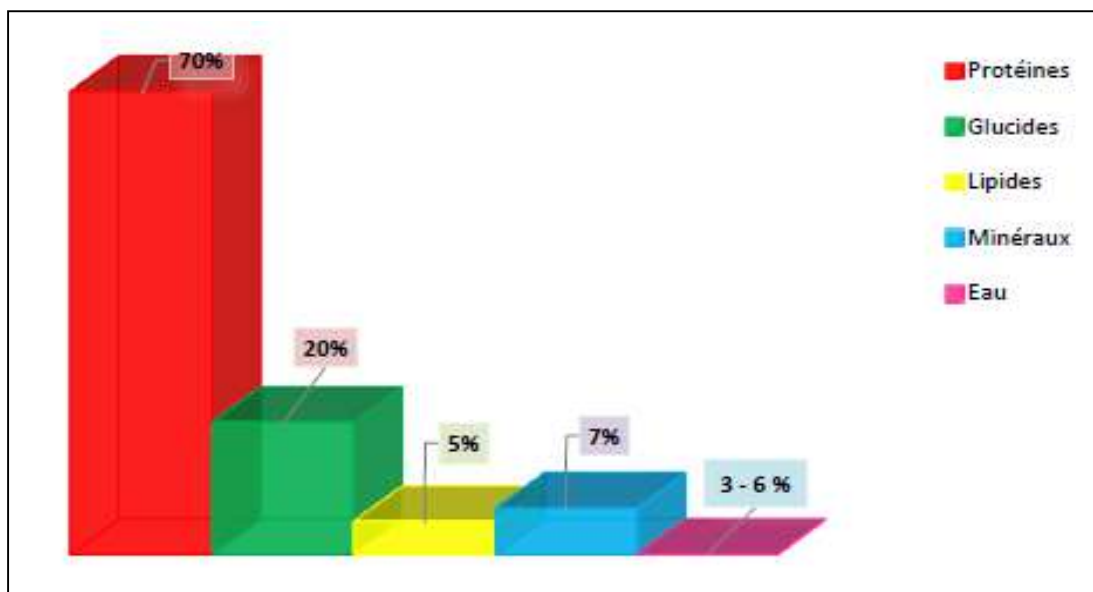
### I.1.5. Répartition géographique

La spiruline se développe préférentiellement dans des eaux chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés. Plus communément, elle s'observe dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales. Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière limitent son aire de répartition à une bande intertropicale située environ entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud. Sa forte plasticité écologique permet de la retrouver à l'état naturel à la fois dans les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou), en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande). Cet organisme est dit ubiquiste. Il est cependant beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe (Charpy *et al.*, 2008).

### I.2. Composition de la spiruline

La composition de la spiruline varie selon les conditions de culture, la période de récolte, l'origine géographique, le procédé de récolte, de séchage, de broyage, de conditionnement, mais aussi par le taux d'ensoleillement (Manet, 2016).

La spiruline comprend dans sa composition entre 60 et 70% de protéines, 15% de glucides, 6% de lipides, 7% de minéraux et de 3 à 6% d'eau (Figure 02) (Niangoren, 2017).



**Figure 02 :** Composition chimique moyenne de la spiruline (Goulambasse, 2018).

### I.2.1. Protéines

D'un point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont complètes, donc de haute qualité, car tous les acides aminés essentiels y figurent (Jourdan, 2006 ; Gutierrez et al., 2015). Elles sont quasiment bio-assimilables à 100 %, ce qui signifie que le corps peut presque toutes les utiliser. C'est ce qui fait en partie la richesse nutritionnelle de cette micro-algue (Barth et Léo, 2019).

La teneur en protéines de la spiruline est élevée avec des variations de 10 à 15% selon le moment de la récolte. Plus la luminosité est élevée, plus le pourcentage en protéines est élevé. Elle représente 10 à 11% de la masse humide, soit 60 à 70% de sa matière sèche. Ce pourcentage est bien plus élevé que celui du poisson (25%), du soja (35%), de la poudre de lait (35%) et des céréales (14%) (Goulambasse, 2018).

### I.2.2. Glucides

Les glucides présents dans la spiruline sont principalement apportés sous forme de glycogène et de rhamnose. Le glucose, le fructose, le saccharose et les quelques polyols comme le glycérol, le mannitol et le sorbitol, ne sont présents qu'en très faibles quantités (Niangoran, 2017).

### **I.2.3. Lipides**

La spiruline n'est pas un aliment gras, les lipides ne représentent, généralement, que 6 à 8% de son poids sec, mais ce pourcentage peut atteindre 11% selon les modes d'extraction ou la souche de spiruline utilisée.

La composition en lipides totaux se caractérise par un bon équilibre entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés. Elle se subdivise en deux fractions : une fraction saponifiable « ou acides gras » (83%) et une fraction insaponifiable (17%) **(Goulambasse, 2018)**.

### **I.2.4. Minéraux**

La spiruline contient tous les minéraux essentiels (7% du poids sec). Selon le pH et la composition du milieu de culture, elle absorbe plus ou moins les minéraux d'où des teneurs variables **(Goulambasse, 2018)**.

Les minéraux et oligoéléments les plus importants et familiers contenus dans la spiruline sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium **(Niangoran, 2017)**.

Concernant le fer, il est 2 à 3 fois mieux assimilé que celui des légumes ou de la viande. En effet, le fer de la spiruline n'est pas à l'état libre mais chélaté à des acides aminés qui vont favoriser son absorption **(Goulambasse, 2018)**.

La haute teneur de la spiruline en fer (minéral essentiellement présent dans les aliments d'origine animale comme la viande, les abats et le poisson) la rend particulièrement populaire auprès des végétariens, sportifs, femmes enceintes et adolescents en phase de croissance **(Michka, 2005) (Tableau 01)**.

**Tableau 01 :** Composition en minéraux de la spiruline et doses requises (**Goulambasse, 2018**).

| MINÉRAUX  | TENEUR (MG/KG) | DOSES REQUISES (MG/JOUR) |
|-----------|----------------|--------------------------|
| Calcium   | 1300 – 1400    | 1200                     |
| Phosphore | 6700 – 9000    | 1000                     |
| Magnésium | 2000 – 2900    | 250 – 350                |
| Fer       | 580 – 1800     | 18                       |
| Zinc      | 21 – 40        | 15                       |
| Cuivre    | 8 – 10         | 1.5 – 3                  |
| Chrome    | 2.8            | 0.5 – 2                  |
| Manganèse | 25 – 37        | 5                        |
| Sodium    | 4500           | 500                      |
| Potassium | 6400 – 15400   | 3500                     |
| Sélénium  | 0.01 – 50      | 0.05                     |

#### **I.2.5. Vitamines**

La spiruline contient de nombreuses vitamines qui contribuent au bon fonctionnement de notre organisme telles que les complexes en vitamine B où seules les vitamines B5 et B8 sont absentes. Ces complexes participent au métabolisme énergétique et au fonctionnement du système nerveux. Il faut noter la teneur exceptionnelle en vitamine B12 qui est de loin la vitamine la plus difficile à obtenir dans un régime végétarien, car aucun végétal courant n'en contient (La spiruline est 4 fois plus riche que le foie cru, longtemps considérée comme meilleure source de vitamine B12) (**Jourdan, 2006**). La spiruline contient également une quantité importante de bêta-carotène ou provitamine A convertible par l'homme en vitamine A et bénéfique pour la vision. La reproduction des cellules et le fonctionnement normal du système immunitaire (**Miranda, 1998 ; Rogowski 2008 ; Niangoran 2017**).

**Tableau 02 : Teneur en vitamines de la matière sèche de Spiruline (Cnera A., 2001)**

|                                      | B1            | B2            | B3            | B5 | B6            | B8 | B9            | B12           | C             |
|--------------------------------------|---------------|---------------|---------------|----|---------------|----|---------------|---------------|---------------|
| Spiruline<br>(mg/10g de<br>biomasse) | 0.08-<br>1.54 | 0.02-<br>0.09 | 0.06-<br>0.53 | -  | 0.03-<br>0.04 | -  | 0.02-<br>0.06 | 0.03-<br>0.08 | 4.2-<br>19.33 |

### **I.2.6. Enzymes**

De nombreuses enzymes entrent aussi dans la composition de la spiruline, sortes de «facilitateurs» biologiques, dont l'exceptionnel SOD (superoxyde dismutase), qui représente une arme majeure contre l'oxydation ou le vieillissement cellulaire **(Ahounou, 2018)**.

La biodisponibilité de la SOD est très importante grâce à la membrane de la spiruline dépourvue de cellulose **(Manet, 2016)**.

### **I.2.7. Pigments**

Les trois principaux pigments, contenus dans la spiruline, responsables de sa couleur sont la chlorophylle, la phycocyanine et la  $\beta$  carotène **(Sguera, 2008) (Tableau 3)**.

#### **I.2.7.1. Chlorophylle**

La chlorophylle a hauteur de 1 % de la masse sèche, pigment responsable de sa coloration verte **(Manet A, 2016)**.

Sa structure étroitement apparentée à celle de l'hémoglobine des mammifères lui confère parfois l'appellation de "sang vert". Ce pigment contribue à rétablir l'équilibre acido-basique, améliore le travail cardiaque, régule le transit intestinal, augmente le taux des globules rouges et stimule la cicatrisation interne comme externe **(Casal, 2019)**.

#### **I.2.7.2. Phycocyanine**

La spiruline contient de la phycocyanine. Il s'agit d'une protéine pigmentée dite «complexe» et qui a une couleur bleue. C'est d'ailleurs cette protéine qui donne sa couleur bleutée à la spiruline. La phycocyanine a de nombreuses vertus médicinales et curatives. En effet, elle agit efficacement contre les attaques immunitaires du quotidien et aussi face à des pathologies plus sérieuses : comme les conséquences de la radioactivité et la chimiothérapie.

De façon globale, elle protège notre ADN et notre foie. Enfin, elle anime la production de cellules souches (**Barth et Leo, 2019**).

### I.2.7.3. Béta-carotène

La bêta-carotène, pigment orange, précurseur de la vitamine A, aussi présent dans la spiruline en grande quantité, joue un rôle important dans le renouvellement des cellules et dans les défenses immunitaires (**Charpy et al., 2008**). Possédant de nombreuses propriétés antioxydantes pour lutter contre le vieillissement des cellules, il permet aussi de réduire les risques de cancer, favoriser la cicatrisation des plaies et protège la peau des agressions extérieures (**Perraut, 2017**).

**Tableau 03 :** Teneurs en pigments exprimées en mg pour 10g de matière sèche de *Spirulina platensis* (**Pierlovisi, 2007**).

| Pigments               | Teneur en mg/10g |
|------------------------|------------------|
| Chlorophylles totales  | 115              |
| Chlorophylle a         | 61-75            |
| Caroténoïdes (orange)  | 37               |
| Phycocyanine (bleu)    | 1500-2000        |
| Phycoérythrine (rouge) | 2900-10000       |

### I.2.8. Acides nucléiques

Chez *S. Platensis* comme chez *S. Maxima*, on rapporte des valeurs de 4.2 à 6% d'acides nucléiques totaux dans la matière sèche (**Santillan, 1974 ; Afaa, 1982**).

La proportion d'ADN serait d'un quart à un tiers par rapport à l'ARN. La teneur en acides nucléiques des spirulines est très inférieure à celle de la généralité des unicellulaires. En se basant sur une valeur moyenne de 5% en acides nucléiques, la limite quotidienne de 4 grammes d'acides nucléiques représente le contenu de 80 grammes de spiruline sèche. Cette quantité équivaut à environ huit fois la dose de spiruline recommandée comme supplément alimentaire. On peut donc raisonnablement penser que la teneur en acides nucléiques de la spiruline ne pose pas de problèmes, même à long terme et pour des doses élevées (**Flaquet et Hurni, 2006**).

### 1.3. Principales applications de la spiruline

#### 1.3.1. En alimentation humaine

Grace à son excellent profil nutritionnel, la spiruline peut générer plusieurs performances :

- ✓ En enravant la malnutrition, elle est utilisée par des humanitaires et des médecins sous forme de poudre afin de la mélanger à des céréales ou à de l'eau, pour sauver des enfants atteints de malnutrition sévère. Elle se révèle plus efficace que les médicaments pour pallier toutes les carences et traiter les effets des maladies qui découlent de la famine comme le marasme ou la kwashiorkor (**Fox, 1999**).
- ✓ Pour les sportifs, sa consommation facilite l'effort et permet une meilleure récupération.
- ✓ Considérer comme une excellente source de vitamines B9 et B12 ainsi que de fer, la spiruline est bien adaptée aux femmes enceintes car elle leur permet d'accéder à tous les nutriments essentiels. Grâce à la phycocyanine qui augmente l'oxygénation des muscles et limite les crampes utérines, ces femmes peuvent mieux se préparer à l'accouchement et mieux récupérer par la suite après avoir pallié la fatigue causée par l'allaitement (**Evoli, 2014**).
- ✓ Par sa composition, la spiruline convient très bien aux enfants et adolescents ainsi qu'au bébé en âge de consommer des protéines. Son apport en éléments essentiels de qualité, ainsi que sa haute assimilabilité, sont idéaux pour les organismes en développement. Trois à cinq grammes par jour suffisent pour éviter les carences et éliminer les toxines liées à la restauration rapide adorée des ados. Elle apporte également un plus sur la qualité de la peau (**Vidalo, 2015**).
- ✓ Sous la loupe de la diététique, la spiruline est utilisée comme complément protéique bénéfique pour la santé. Agissant comme un produit coupe faim, elle réduit l'appétit et optimise l'apport énergétique (**Tremblin et Moreau, 2017**).
- ✓ En agroalimentaire, elle est utilisée comme colorant naturel (la phycocyanine est un des rares pigments naturels de couleur bleue) dans les chewing-gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées. Elle apparaît également dans une gamme de produits algaux mélangée à du sel, des tagliatelles etc. En Suisse et au Japon, il existe depuis longtemps du pain à la Spiruline (**Boudaoud, 2016**).

### **1.3.2. En alimentation animale**

Comme pour l'homme, la spiruline renforce aussi les défenses naturelles de l'animal. Elle joue un grand rôle dans le maintien de son système immunitaire, lui permet de lutter contre certaines maladies et agit contre son vieillissement et sa fatigue.

Les chiens, les chats, les poissons et les chevaux sont les animaux pour lesquels la spiruline est couramment utilisée. Chez les chevaux, sa consommation est très courante pendant la phase de croissance, de compétition ou de convalescence.

Notons aussi que les bons éleveurs de poules n'hésitent pas à ajouter de la spiruline à leur alimentation. C'est une pratique de connaisseur qui participe à la ponte d'oeuf d'une qualité nettement supérieure **(Casal, 2019)**.

### **1.3.3. En cosmétique**

L'analyse quantitative et qualitative des éléments qui composent la spiruline furent formelles. Autant d'actifs naturels retrouvés (acides aminés, oligoéléments, anti oxydants, minéraux, vitamines, acides nucléiques (composants de l'ADN), protéines, acides gras essentiels...) dont bénéficient ceux qui la consomment dans l'assiette et que certains laboratoires de soins cosmétiques ont introduits dans des crèmes, des shampoings ou des sérums **(Banks, 2007)**.

Grâce à ses propriétés anti-oxydantes qui empêchent la formation des radicaux libres, la spiruline améliore la souplesse et l'élasticité de la peau et donc retarde son vieillissement et apporte brillance et résistance aux ongles et aux cheveux par les nutriments et les oligoéléments qu'elle concentre **(Banks, 2007)**. Considéré comme un aliment « beauté » d'exception, la spiruline est utilisée aujourd'hui dans les soins anti-âges à connotation marine, dans la préparation de produits de soins en spa et thalasso (masques visage, enveloppements corporels), comme soins réparateurs et fortifiants des cheveux et des ongles, en cataplasme et enveloppement marins, comme soin revitalisant pour le corps ou masque minéralisant du visage **(Casal, 2019)**.

#### 1.3.4. En thérapeutique

De la valeur nutritionnelle exceptionnelle de la spiruline, découlent de multiples applications thérapeutiques dont les plus importantes sont :

- ✓ Le traitement des carences nutritionnelles (malnutrition protéino-énergétique, anémie ferriprive et hypovitaminose) ;
- ✓ Le renforcement des défenses immunitaires (une opportunité pour lutter contre les maladies opportunistes) ;
- ✓ Le traitement de certaines affections dermatologiques ;
- ✓ Elle constitue également un partenaire efficace pour calmer les douleurs rhumatismales et l'arthrose, la lutte contre l'ostéoporose, l'excès de cholestérol, l'hypertension, et les allergies. Elle protège le cœur et augmenterait la régénération des cellules cérébrales **(Evoli conseil, 2014)**.

Toutes ces applications nutritionnelles et les avantages thérapeutiques de la spiruline ont permis aujourd'hui sa vente et sa consommation comme complément protéique ou aliment «nutraceutique».

## ***CHAPITRE II :***

### *Activités biologiques de la spiruline*

## **CHAPITRE II : Activités biologiques de la spiruline**

### **II.1. Activités biologiques de la spiruline**

En plus de sa valeur nutritive élevée, la spiruline présente de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anti-cancéreuse, anti-microbienne, anti-diabétique et obésité et anti-toxicité (**Shao et al, 2019**).

#### **II.1.1. Activité anti-oxydante**

Les principaux actifs antioxydants qui confèrent un statut indétrônable d'antioxydant puissant à la spiruline sont : la phycocyanine, la bêta carotène, les polyphénols, le superoxyde dismutase (SOD) et d'autres vitamines et minéraux contenus dans cette matière.

De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont identifié cette activité potentielle de la spiruline (ou de ses extraits) et ont montré que le traitement à la spiruline réduit significativement le stress oxydatif (**Goulambasse, 2018**). Elle permet le ralentissement du vieillissement et de la destruction des cellules (**Barth et Leo, 2019**).

#### **II.1.2. Activité antimicrobienne**

Un grand nombre de produits et/ou d'extraits extracellulaires d'algues ont été signalés comme agents antimicrobiens (anti-viraux, anti-bactériens, anti-fongiques, anti-protistes), bien que la structure et l'identité détaillée de la substance active les constituants de bon nombre d'entre eux ne sont pas encore connus (**Borowitzka, 1995**). Parmi les micro-algues, la spiruline gagne de plus en plus la considération en tant qu'agent anti-microbien naturel (**Shao et al ; 2019**).

##### **II.1.2.1. Activité antibactérienne**

Certaines études préliminaires *in vitro* d'extraits de spiruline sur quelques bactéries pathogènes (*Escherichia coli* (*E. coli*) et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)) ont permis d'observer un potentiel antimicrobien efficace (**Qureshi et Hunter, 1995**).

Ce résultat, certifie la possession de la cyanobactérie d'un mécanisme de défense pour lutter contre les bactéries pathogènes et donc une perspective de mettre au point ou de

développer un antibiotique (agent antimicrobien) à base de plante, sûr et prometteur avec moins d'effets secondaires pouvant substituer à des médicaments synthétiques **(Al-ghanayem, 2017)**.

Les résultats des différents extraits de spiruline sur diverses bactéries n'ont pas permis à ce jour de définir une substance anti-bactérienne particulière mais un spectre d'action qui serait un support pour démontrer le potentiel de cette activité sur quelques germes pathogènes **(Kaushik et Chauhan, 2008)**.

#### **II.1.2.2. Activité antivirale**

La richesse de la spiruline en  $\beta$ -carotène, en vitamine B12 ainsi que d'autres vitamines du groupe B, depuis fort longtemps établi comme substances intéressantes dans la lutte contre les infections virales n'explique pas entièrement le pouvoir antiviral de la spiruline. Il semblerait que les polysaccharides membranaires de cette algue soient aussi impliqués dans ce processus **(Andreani, 2012)**. Il a été démontré l'efficacité *in vitro* des polysaccharides contre la réplication de plusieurs virus enveloppés comme les Herpès Simplex Virus (HSV), le virus de l'influenza, le virus de la rougeole, le cytomégalo virus humain (CMV) et le VIH-1 **(Youbare, 2007)**.

Le mécanisme semble reposer sur le fait que le virus, ne pouvant se fixer sur la membrane de la cellule hôte, ne peut donc ni pénétrer celle-ci ni, par voie de conséquence, se répliquer **(Andreani, 2012)**.

#### **II.1.3. Activité anti-inflammatoire**

La richesse de la spiruline en protéine et en acide gras notamment les oméga 3 et 6 qui ne peuvent pas synthétisés par l'organisme lui donne un intérêt biologique particulier puisque cet acide gras est un précurseur des prostaglandines, molécules ayant une activité anti-inflammatoire et immunostimulante au sein de l'organisme **(Charpy et al., 2008)**.

La phycocyanine est un pigment assez rare dans la nature. Elle se trouve avec un pourcentage d'environ 10 à 11% en moyenne dans la spiruline **(Charlemagne, 2008)**. Ce composant inhibe la formation de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factors  $\alpha$ ), supprimant l'expression de la cyclooxygénase 2 (COX-2), médiateur

principal de l'inflammation, et diminuant la production de prostaglandine E, La phycocyanine stimulerait également la production des globules rouges et des globules blancs (**Goulambasse, 2018**).

Un autre composant présent dans la spiruline serait à l'origine de l'activité anti-inflammatoire, le  $\beta$ -carotène ou la provitamine A. Il aurait pour impact l'inhibition de l'expression de COX-2 ainsi que de TNF- $\alpha$  et IL-1  $\beta$  (Interleukine 1  $\beta$ ) et la production de prostaglandine E (**Charlemagne, 2008**).

Elle augmente l'activation des macrophages, l'activité des cellules T et l'activité des cellules naturellement destructrices (NK). Ce processus permettrait la libération des interférons gamma (IFN -  $\gamma$ ), ce qui peut éventuellement rendre les virus inactifs (**Charpy et al., 2008**).

### II.1.4. Activités anti-toxicité

**Shastri et al., (1999)** ont étudié l'effet protecteur de *Spirulina fusiformis* (*S. fusiformis*) contre la toxicité du plomb chez les souris albinos et ont enregistré une augmentation prononcée du taux de survie par l'administration de spiruline. Récemment, **Ebaid et al., (2017)** ont étudié l'effet protecteur de *S.platensis* contre la toxicité hépatique produite par le traitement avec des nanoparticules de cuivre. Ils ont confirmé le rôle bénéfique de *S.platensis* en tant que marqueurs antioxydants qui amélioreraient les paramètres fonctionnels hépatiques (**Rajesh et Kala 2015 ; Shao et al., 2019**).

### II.1.5. Activité anticancéreuse

Différentes études et analyses d'experts, ont affirmé que la bêta-carotène, un des antioxydants implanté dans la spiruline, pourrait inverser le processus cancéreux et inhiber le déploiement des cellules cancérigènes. Une de ces analyses confirmatives du résultat fut élaborée avec des personnes qui avaient une leucoplasie buccale (état précancéreux de la bouche). Ces derniers, ont montré après une prise quotidienne d'1g de spiruline pendant un an une amélioration de leur état et réussirent à arrêter le développement de la pathologie. La phycocyanine intervient aussi dans cette activité en s'attaquant aux radicaux libres responsables du cancer (**Vidal, 2015**).

## **II.2. Type et source des antimicrobiens**

Il existe différents types d'antimicrobiens : antibiotiques, antiviraux, antifongiques, anti-protozoaires, etc. Les antibiotiques sont utilisés dans le traitement des infections bactériennes et peuvent être obtenus à partir de sources naturelles ou synthétiques. La plupart des médicaments antiviraux, antifongiques, anti protozoaires et anticancéreux sont cependant obtenus à partir de sources synthétiques.

En raison de la résistance récurrente des micro-organismes pathogènes aux antibiotiques, ainsi que des effets secondaires présentés par ces antibiotiques, la recherche d'autres sources d'antimicrobiens, telles que les plantes médicinales et les cyanobactéries, pour leurs propriétés antimicrobiennes gagne du terrain (**Abreu et al., 2012 ; Naomi, 2014**).

Les cyanobactéries (Algues bleu-vert) ont des propriétés biochimiques uniques et sont une source potentielle de métabolites secondaires actifs. Ils produisent des intracellulaires et des extracellulaires métabolites à activité anti-algale, antibactérienne, antifongique et antivirale (**Borowitzka, 1992 ; Rathi, 2013**).

Les produits phytochimiques agissent fréquemment par des mécanismes différents de ceux des antibiotiques conventionnels et pourraient donc être utiles dans le traitement des bactéries résistantes (**Abreu et al., 2012 ; Naomi, 2014**).

L'activité antibactérienne de *S. platensis* était due à ses composés bioactifs. **Fithriani et al., 2015**) ont déclaré que *S. platensis* contient des composés bioactifs, notamment des alcaloïdes, des flavonoïdes, des stéroïdes, des saponines et des tanins (**Setyaningsih et al., 2020**).

## **II.3. Composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont une classe de composés chimiques consistant en un groupe hydroxyle (-OH) lié directement à un groupe hydrocarboné aromatique. Le plus simple de la classe est le phénol, également appelé acide carbolique  $C_6H_5OH$ . Les composés phénoliques sont classés comme phénols ou polyphénols simples en fonction du nombre d'unités phénol dans la molécule (**Abd-Alrassol, 2019**).

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies bio-synthétiques :

- ✓ voie de l'acide shikimique (shikimate)
- ✓ voie de l'acétate-malonate (**Mahmoudi et al., 2013**).

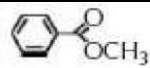
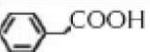
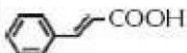
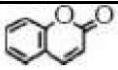
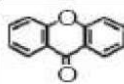
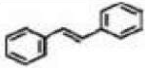
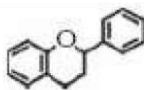
Les cyanobactéries en général, synthétisent et secrètent dans leur milieu de culture des substances diverses à activité algicide, antibiotique, cytotoxique et immunosuppressive afin de prédominer dans leurs écosystèmes. Ces substances peuvent être des peptides de faibles poids moléculaires, des alcaloïdes, des terpénoides, des polysaccharides et des lipopolysaccharides des polyphénols. La plupart de ces métabolites sont accumulés dans la biomasse cyanobactérienne (**TRABELSI et al., 2010**).

### II.3.1. Classes des polyphénols

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (**Tableau 04**).

Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques.

**Tableau 04** : Structure des squelettes des polyphénols (**Crozier et al., 2006**).

| Nombre de carbones | Squelette | Classification           | Structure de base                                                                     |
|--------------------|-----------|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 7                  | C6-C1     | Acides phénols           |  |
| 8                  | C6-C2     | acétophénonnes           |  |
| 8                  | C6-C2     | Acide phénylacétique     |  |
| 9                  | C6-C3     | Acides hydroxycinamiques |  |
| 9                  | C6-C3     | Coumarines               |  |
| 10                 | C6-C4     | Naphthoquinones          |  |
| 13                 | C6-C1-C6  | Xanthones                |  |
| 14                 | C6-C2-C6  | Stilbènes                |  |
| 15                 | C6-C3-C6  | Flavonoïdes              |  |

### **II.3.1.1. Acides phénols simples**

Le terme acide-phénol peut s'appliquer à tout les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique. Ces composés peuvent être divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (**Massimo et al., 2007**).

### **II.3.1.2. Flavonoïdes**

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitués de deux cycles phényles, les cycles A et B, reliés par une chaîne à trois carbones (structure en C6-C3-C6). La chaîne en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisée pour former le cycle C (**Bougandoura, 2010**).

Ils sont connus pour contenir un large éventail d'activités chimique et biologique: activité antitumorale, antioxydante, antivirale, antihypertensive, antiallergique, anti-inflammatoire et antimicrobienne (**Das et al., 1994 ; Cushine et Lamb 2005 ; Asres et al., 2005 ; Kim et al., 2007 ; Oucif, 2018**) (Tableau 5).

### **II.3.1.3. Tanins**

Les tannins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, avec en outre les propriétés habituelles des phénols, à savoir la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines. Ils ont de grandes capacités antioxydantes dues à leur noyau phénol. Les tannins hydrolysables et condensés sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples. Ils contiennent de nombreux groupements hydroxyles (sur les noyaux phénoliques), ce qui leur permet de former des complexes insolubles avec les hydrates de carbone, des ions métalliques et des protéines. Cette réaction avec les protéines est à l'origine de nombreux effets biologiques, les enzymes complexées de cette façon montrent une réduction marquée de leur activités (**Peronny, 2005 ; Oucif, 2018**).

## **II.4. Composés terpéniques**

Les terpènes et les stéroïdes ont un point commun essentiel, peuvent être considérés comme formes semblables d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées de 2-méthylbutadiène. Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes proprement dit mono-terpènes en C10, les sesquiterpènes en C15, les di-terpènes en C20, les tri-terpènes (C30) (exemple : les stéroïdes), les tétra-terpènes (C40) (exemple : les caroténoïdes) et les poly-terpènes (~4 000) (**JUDD et al., 2002**).

## **II.5. Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des molécules d'origine naturelle. On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes. Leur structure chimique de base est un hétérocycle azoté sauf pour quelques substances dans lesquelles l'azote est extra cyclique (**BRUNETON, 1993**).

Les alcaloïdes forment un groupe hétérogène du point de vue de leur structure, de leurs propriétés et de leurs effets biologiques. Ils agissent directement sur le système nerveux avec des effets sur la conscience et la motricité. L'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action antispasmodique, et mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique (**Crozier et al., 2006**).

**Tableau 05 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques selon : Bruneton, 1999 ; Balasundram et al., 2006 ; Hennebelle, 2007 ; Li et al., 2007 ; Habauzt et Horcajada, 2008 ; Bondla et al., 2009 ; Gresele et al., 2011 ; KEBBAB, 2014).**

| Composés phénoliques             | Activité biologique                                                                                                                                     |
|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Acides phénols                   | Antifongique, antioxydant, antibactérienne                                                                                                              |
| Tanins                           | Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant<br><br>Anti diarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteur.                                    |
| Flavonoïdes                      | Anti tumorale, anti carcinogène, anti-inflammatoire, antioxydant, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, anti-bactérienne, hypotenseur, diurétique. |
| Coumarines                       | Anticoagulante, antioxydant, protectrice vasculaire et anti-œdémateuse                                                                                  |
| Anthocyanes                      | Protectrices capillaro-veineux, anti oxydant                                                                                                            |
| Proanthocyanidines               | Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants anti-tumoraux, antifongiques et anti-inflammatoires                                                  |
| Tannins galliques et catéchiques | Antioxydants                                                                                                                                            |
| Lignanes                         | Anti-inflammatoires, analgésiques.                                                                                                                      |

## **II.6. Mécanisme d'action des métabolites secondaires**

Les composés phénoliques sont de puissants antioxydants et piègeurs de radicaux libres qui peuvent agir en tant que donneurs d'hydrogène, agents réducteurs, chélateurs de métaux et extincteurs d'oxygène singulets (**Chew et al., 2009**).

Des études ont montré que les composés phénoliques tels que la catéchine et la quercétine sont très efficaces pour stabiliser les bicouches de phospholipides contre la peroxydation induite par les espèces réactives de l'oxygène (**Gülçin et al., 2010**).

Les flavonoïdes se sont révélés *In vitro* d'être des substances antimicrobiennes efficaces contre un large éventail de micro-organismes. Leur activité est probablement due à leur capacité à se complexer avec des protéines extracellulaires et solubles et à se complexer avec des parois cellulaires bactériennes (**Cowan, 1999**).

On pense que les tanins et les flavonoïdes sont responsables de l'activité anti-diarrhéique en augmentant la résorption de l'eau colique et des électrolytes (**Palombo, 2006**).

Les terpénoides sont des produits de condensation des unités d'isoprène C5 qui sont des constituants importants des huiles essentielles (**Pichersky et Gershenzon, 2002**). Ils se sont révélés actifs contre les bactéries, les champignons, les virus et les protozoaires. Le mécanisme d'action des terpènes n'est pas entièrement compris, mais il est supposé qu'il implique une perturbation de la membrane par les composés lipophiles (**Cowan, 1999**).

Les alcaloïdes se sont avérés avoir des propriétés antimicrobiennes avec des effets microbicides contre les espèces de *Giardia* et *Entamoeba* ainsi que des effets antidiarrhéiques, qui sont probablement dus à leurs effets sur le temps de transit dans l'intestin grêle (**Cowan, 1999 ; Naomi, 2014**).

*Chapitre III :*

*Culture de la spiruline*

## **Chapitre III : Culture de la spiruline**

### **1. Milieu et conditions de culture**

La spiruline croît naturellement dans les eaux saumâtres et les lacs salins. Elle est présente dans les eaux chaudes, douces et alcalines, (NIANGORAN, 2017). Elle peut être cultivée en milieu naturel, semi-naturel (ADEL *et al.*, 2014), ou en milieu contrôlé notamment dans les photobioréacteurs grâce à la synthétisation du milieu de culture (NIANGORAN, 2017).

#### **1.1. Milieu de culture**

Il s'agit d'une reproduction artificielle du milieu dans lequel la spiruline croît naturellement.

C'est donc une solution natronée et alcaline constituée d'un mélange d'eau et de sels minéraux, qui apporte à la spiruline tous les éléments chimiques qui lui sont nécessaires (Ahounou, 2018). Il s'agit de milieux très minéralisés riches en carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ou bicarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ), d'une source d'azote fixé et d'autres minéraux (NIANGORAN, 2017). Le pH du milieu de culture doit être compris entre 8 et 11. Le milieu de culture de référence étant le milieu standard Zarrouk (Ahounou, 2018).

#### **1.2. Conditions optimales**

##### **Le bassin de culture idéal :**

- Est en béton.
- Contient des sous serres pour la protection des intempéries, fientes d'oiseaux, pollens, feuilles, soleil, mais aussi pour éviter la mousson dont les pluies diluviennes dilueraient le milieu de culture, tout en laissant passer la lumière (Manet, 2016). La serre permet de pallier aux variations de température et l'évaporation de l'eau (AHOUNOU, 2018).
- Sa taille est de 15 à 18 centimètres de profondeur et de plusieurs centaines de mètres de longueur soit 250 à 350 m<sup>2</sup> pour permettre un contrôle des constances physico-chimiques plusieurs fois par jour,
- Son pH doit être autour de 11,

- La température de l'eau entre 30 - 35°C.
- Les intrants chimiques utilisés sont tracés et de qualité, ils répondent à un cahier des charges rigoureux ; un contrôle de la qualité et de la pureté de l'eau par des organismes certifiés et indépendants est nécessaire pour assurer une spiruline de bonne qualité.
- Un brassage constant à l'aide d'une grande roue à aube, de 2 m de diamètre dont la vitesse de rotation est de 10 tours par minute ou d'une pompe afin que tous les filaments de spiruline soit exposés au soleil.
- La culture doit utiliser une souche de spiruline de qualité.

Ainsi un bassin de 4 m<sup>2</sup> de 20 cm de profondeur produit 40 g de spiruline sèche par jour (Manet, 2016).

### 1.3. Facteurs qui influent sur la productivité de la spiruline :

- **Luminosité** (photopériode de 16H par jour (l'ombre permet d'augmenter la photosynthèse et donc la productivité).
- **Température** (30°C), la plus constante possible, la biomasse diminue avec la chute de la température la nuit (Dargent, 2016 ; Manet, 2016). Elle doit être comprise entre 20 et 43°C. A 20°C : la culture s'arrête et à plus de 43°C : elle meurt (Lovel, 2019).
- **Vitesse d'agitation** (Dargent, 2016 ; Manet, 2016), Une agitation régulière mais douce (2 à 4 fois par jour) (Lovel, 2019),
- **pH** doit être compris entre 8 et 11. Le pH idéal se situe autour de 9,5 (NIANGORAN, 2017). Ce pH de valeur assez haute permet également de maintenir une eau saine, en évitant la prolifération d'une grande partie des parasites (microbes, etc.) (Lovel, 2019).
- **Qualité de l'eau,**
- **Présence de macro et micronutriment** (C, N, P, K, S, Mg, Na, Cl, Ca, Fe, Zn, Cu, Ni, Co, Se),
- **Taille de l'inoculation** (une concentration plus faible améliore la croissance),
- **Solides dissous** (10-60 g/l) (Dargent, 2016 ; Manet, 2016).

## 2. Mode de culture

La production de la spiruline se fait à plusieurs échelles : artisanale, semi-industrielle et industrielle (**Tableau 06**). Elles se différencient par l'ordre de grandeur de l'investissement (moyens et matériaux utilisés), la surface des bassins de culture et d'exploitation, le tonnage de ces productions et la sophistication des techniques de production. Quel que soit le mode de production, il se base sur les mêmes étapes (**Charpy et al., 2008 ; Ahounou, 2018**).

**Tableau 06** : Différentes productions de spiruline et leurs caractéristiques (**Charpy et al., 2008**).

| production<br>Caractéristiques | Artisanale            | Semi industrielle         | Industrielle                              |
|--------------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------------------------|
| Taille des bassins             | < 100 m <sup>2</sup>  | 200 – 1000 m <sup>2</sup> | 1000 m <sup>2</sup> – 5000 m <sup>2</sup> |
| Surface totale exploitée       | < 3000 m <sup>2</sup> | 3000 m – 1 hectare        | Plusieurs hectares                        |
| Capacité de production         | < 200 kg              | 10 – 50 tonnes            | 50 – >500 tonnes                          |

## 3. Différentes étapes de la production de la spiruline (Figure 03)

### 3.1. Démarrage

Le démarrage de la culture dépend de la quantité et de la qualité de souches disponibles. Le bassin (ou autres récipients) recevant un nouveau milieu de culture doit être propre et désinfecté pour éviter la contamination du milieu par des organismes étrangers pouvant entraîner la détérioration de la culture. S'il n'y a pas de souche suffisante pour démarrer une culture de volume voulu, on doit passer à l'étape de multiplication qui consiste à augmenter progressivement le volume de la culture afin d'éviter la photolyse. Le passage de la culture dans des récipients de petit volume jusqu'au bassin est donc une étape obligatoire (**Goulambasse, 2018**).

### **3.2. Fertilisation et entretien**

Pour produire plus de  $4\text{g/m}^2/\text{j}$  de spiruline sèche, l'apport de carbone est nécessaire.

D'après la formule préconisée par JOURDAN, le taux de bicarbonate qu'il faudra ajouter par jour est de  $15\text{g/m}^2$  et celui de l'urée de  $3\text{g/m}^2$ . Pour une raison d'organisation, la fertilisation des bassins se fait tous les deux jours à raison de 100g de bicarbonate et 30 g d'urée pour un bassin de  $10\text{ m}^2$  (**Jourdan, 2010**).

Il est impératif d'agiter, au moins 2 à 4 fois par jour une culture de spiruline. L'agitation du milieu de culture permet une bonne répartition de la lumière et favorise les échanges gazeux (élimination du dioxygène et absorption du gaz carbonique). Cependant, une agitation trop violente endommage la spiruline provoquant l'apparition de mousse. L'agitation peut se faire avec une pompe électrique, ou par injection d'air au moyen d'un compresseur pour aquarium ou encore par une roue à aubes (**Niangoran, 2017**).

### **3.3. Récolte**

La spiruline peut être récoltée quotidiennement suivant des méthodes variées qui influenceront la qualité du produit final. Les récoltes sont préconisées en matinée lorsque le soleil n'est pas encore entièrement levé, car c'est à ce moment que la spiruline contient son plus haut taux de protéines (**Evoli, 2014**).

La spiruline est prête pour la récolte lorsque sa concentration dans le bassin de culture est autour d'un Secchi de 2-3 Cm (**Jourdan, 2014 ; Ahounou, 2018**). La récolte se fait généralement quotidiennement du mois d'Avril à Octobre. Le principe est d'en récolter chaque fois de petites quantités de manière à en laisser suffisamment dans les bassins pour qu'elle puisse continuer à se développer correctement (**Lovel, 2019**).

#### **3.3.1. Filtration**

Il s'agit d'amener l'eau des bassins sur des filtres à l'aide de pompes. Celle-ci est envoyée sur un tamis de toile très fine de l'ordre de 50 microns, ce qui permet de conserver uniquement une "pâte verte", appelée "biomasse". L'eau restante retourne dans le bassin tandis que la spiruline reste « capturée » sur le filtre et s'accumule petit à petit (**Lovel, 2019**).

### **3.3.2. Pressage**

Il est réalisé à l'aide de presses mécaniques. Le pressage permet d'évacuer le maximum d'eau possible avant le séchage. Tout comme le séchage, il a une influence sur le goût final de la spiruline. Si le pressage est suffisant, l'odeur de la spiruline séchée ne sera pas désagréable. Cette étape a aussi pour objectif de rendre la spiruline modelable pour l'extrusion et d'accélérer par la suite le séchage (**Lecointre, 2017**).

### **3.3.3. Extrusion**

La spiruline est extrudée sous forme de spaghettis appelés "paillettes". Ceci a pour but d'augmenter la surface d'échange entre la spiruline et l'air afin d'accélérer le séchage. Réalisée à l'aide d'un poussoir à saucisses ou d'un pistolet SIKA si la production est faible (**Lecointre, 2017**). Ces spaghettis sont étalés sur des cadres qui seront ensuite placés dans un séchoir (**Lovel, 2019**).

### **3.3.4. Séchage**

Un système de ventilation va permettre de déshydrater la spiruline en quelques heures. Pour garantir un produit de qualité, il faut veiller à ne pas monter au-delà des 40°C, de manière à préserver toutes les vitamines de la spiruline. C'est ce qu'on appelle un séchage à basse température (**Lovel, 2019**).

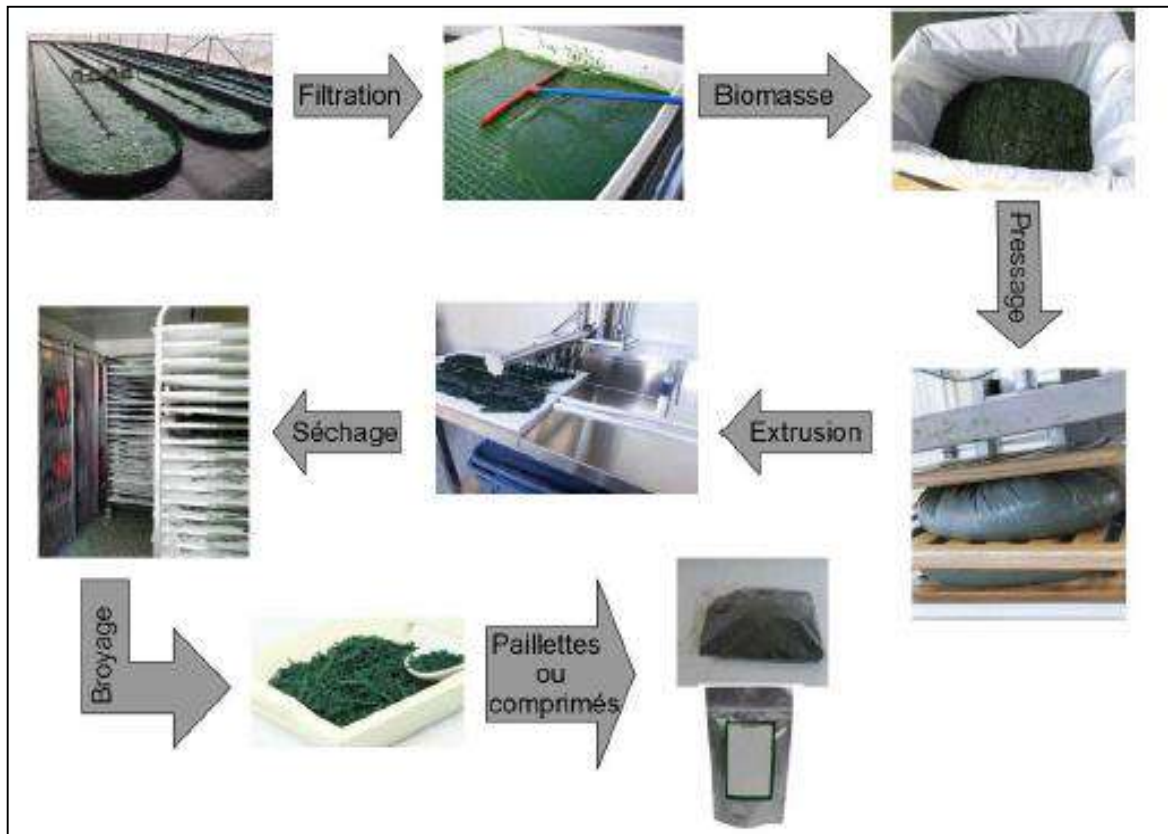
### **3.3.5. Broyage et mise en conditionnement**

Le broyage permet d'obtenir des paillettes de spiruline. La compression quant à elle peut être utilisée pour la réalisation des comprimés. Des adjuvants ne sont pas forcément ajoutés lors de la compression (**Lovel, 2019**).

La spiruline peut être conditionnée sous forme de paillettes, de brindilles, de granulés, de poudre, de comprimés ou de gélules (**Lecointre, 2017**).

L'emballage se fait dans de sachet de couleur noir (**Goulambasse, 2018**) et refermables afin de protéger la spiruline de la lumière, de l'humidité, de la chaleur et de

l'oxydation. Une fois un sachet ouvert, il est conseillé de le consommer dans les 15 jours afin de conserver le bêta carotène qui est un puissant antioxydant (**Lecointre, 2017**).



**Figure 03 :** Les différentes étapes de production de la spiruline (**Lovel, 2019**).

#### **4. Processus simplifié de la production de spiruline : (Evoli, 2014 ; Niangoran, 2017) (Figure 4)**

##### **Etape 1. Culture de la souche de spiruline**

Elle se fait dans un milieu contenant (l'eau + nutriments avec agitation, lumière, ... ) puis la récolte de la spiruline est réalisée par pompage ou autre méthode d'extraction du milieu de culture.

##### **Etape 2. Filtration du milieu de culture**

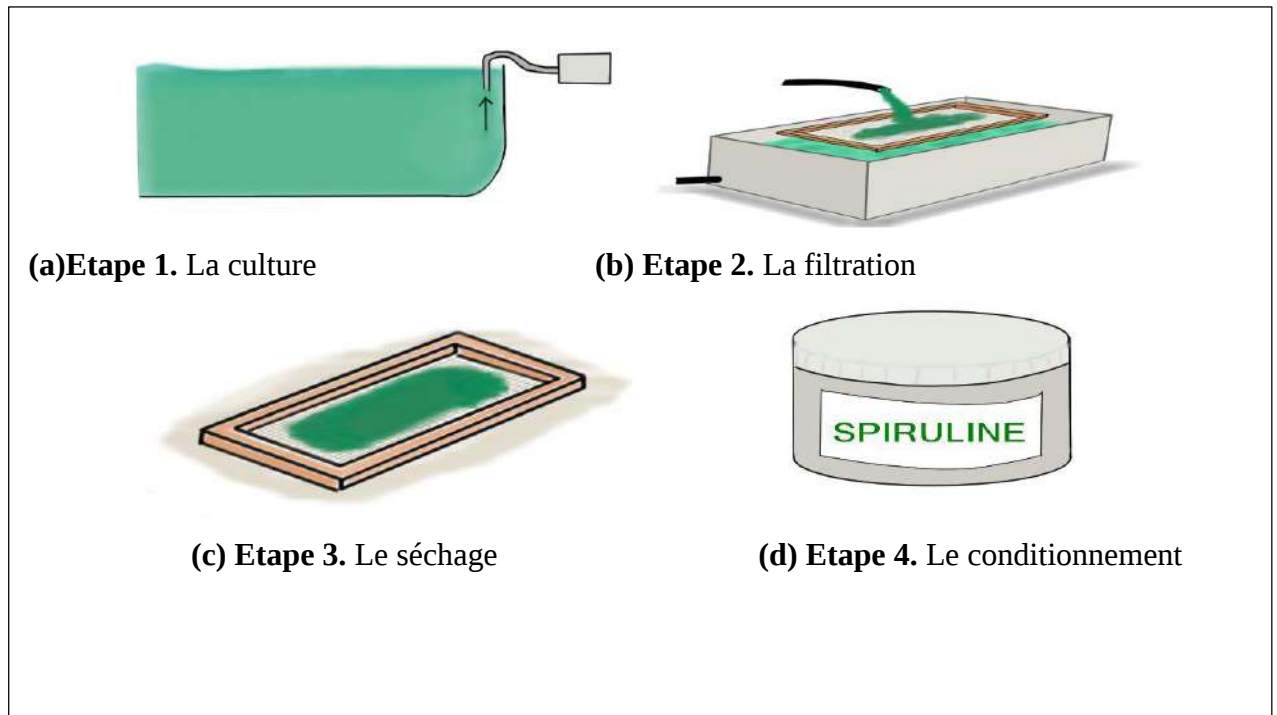
Afin d'extraire la spiruline à l'aide d'un filtre (environ 10  m de diamètre).

### **Etape 3. Séchage de la spiruline sur des claies**

Stockées dans un local destiné au séchage (four), ou par des méthodes plus élaborées (ionisation).

### **Etape 4. Conditionnement de la spiruline**

Sous la forme de paillettes, poudre ou gélules.



**Figure 04** : Processus simplifié de la production de spiruline (Evoli, 2014 ; Niangoran, 2017).

## **5. Suivi biologique de la culture**

Il consiste à suivre de près la santé de la culture. Pour cela, deux types d'observation ont été appliqués : observations macroscopique et microscopique (Goulambasse, 2018).

### **5.1. Observation macroscopique**

L'état de santé du milieu de culture peut être diagnostiqué en utilisant uniquement l'organe des sens. Plusieurs critères peuvent être observés : la couleur, l'odeur et l'aspect extérieur (Goulambasse, 2018).

❖ **Couleur**

Le tableau suivant (**Tableau 07**) montre les différentes possibilités qui peuvent se produire en observant la couleur du milieu (**Goulambasse, 2018**).

**Tableau 07** : Couleurs du milieu de culture avec leur signification (**Goulambasse, 2018**).

| Bleu-vert             | Vert                   | Jaune                          | Jaune+écume              | Jaune grisâtre            | Incolore                                         |
|-----------------------|------------------------|--------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------------------------------|
| Culture trop ombragée | Culture en bonne santé | Trop forte : lumière photolyse | Lyse+exo polysaccharides | Contamination bactérienne | Culture précipitée ou dévorée par des prédateurs |

D'après ce tableau, une culture en bonne santé est de couleur verte. Lorsque la culture vire au jaune, elle est exposée à un fort ensoleillement. Lorsque que la lumière est trop forte et que la culture est de couleur jaune avec des écumes, il y a lyse (destruction des cellules).

Lorsqu'elle a une couleur jaune grisâtre ou incolore, le problème est lié à la présence d'autres microorganismes nuisibles à la spiruline (**Goulambasse, 2018**).

❖ **Odeur**

Lorsque le jaunissement du milieu de culture est suivi d'une apparition de mousses jaunes et accompagné d'une forte odeur d'ammoniac, cela veut dire qu'il y a un excès d'urée dans le milieu (**Goulambasse, 2018**).

❖ **Grumeaux**

Les grumeaux ou peaux sont des substances ayant la forme de caillots flottants dans le milieu. Contrairement au précédent, lorsqu'ils sont de couleurs vertes, cela reflète un manque d'azote ammoniacal et/ou un pH trop bas. Lorsque ces grumeaux sont bruns, le fond est donc pourvu de boues en fermentation (**Goulambasse, 2018**).

## 5.2. Observation microscopique

L'observation microscopique d'un échantillon permet un jugement plus objectif de l'état de santé du milieu car elle permet de constater l'aspect des filaments et de repérer les organismes qui peuvent nuire à la culture. Cette observation est assurée par un microscope photonique PARALUX.

Concernant l'aspect des filaments, plusieurs cas peuvent se présenter :

- Des filaments cassés, pouvant être dus soit par une agitation brutale du milieu de culture, soit par une lumière en excès, soit par un manque de potassium.
- Une spiruline de petite taille peut être le résultat d'une croissance trop rapide ou d'un pH (et/ou salinité) trop élevé.
- Par contre, un manque de fer entraîne des filaments anormalement longs (**Goulambasse, 2018**).

*PARTIE*

*PRATIQUE*

*Chapitre IV :*

*MATERIELS ET*

*METHODES*

## PARTIE PRATIQUE

### Chapitre IV : MATERIELS ET METHODES

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire pédagogique de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Kasdi Merbah Ouargla.

#### IV.1. Matériels

##### IV.1.1. Matériel biologique

##### IV.1.1.1. Origine des souches de spiruline

Le présent travail consiste à l'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait de l'algue bleu-vert : *Spirulina platensis*.

On utilise deux souches de spiruline :

La première souche, Algérienne est issue des bassins de culture artisanale de Mr SAGGAI, producteur de la spiruline localement (Photo 3a). La spiruline a été cultivée dans un milieu de culture enrichi par les minéraux nécessaires à la croissance, où les conditions de culture et de production sont maîtrisées. Elle est récoltée, triée et séchée à l'air libre, à l'ombre et à une température ambiante, puis broyées et conservées dans des flacons en verre à l'abri de la lumière et de l'humidité pour les besoins de l'étude. Cette souche est celle de Mr HIRI producteur de la spiruline à Tamanrasset, elle est dénommée Behatam, et cultivée à 1824 m d'altitude près de Tamanrasset dans le Sahara algérien.

La deuxième souche d'origine Tchadienne nous a été fournie par une collègue (Photo3b).



(a)



(b)

**Photo 03 :** La souche en poudre de la spiruline étudié.

**a :** Souche Algérienne

**b :** souche Tchadienne

#### **IV.1.1.2. Microorganismes testés**

Les bactéries de référence nécessaires pour la présente étude ont été obtenues de la part de Monsieur Bouricha (U.K.M. Ouargla).

Les micro-organismes utilisés dans cette étude sont six cultures bactériennes :

**Tableau 08 : Souches bactériennes utilisées dans l'étude**

| <b>Les bactéries gram positives</b> | <b>Les bactéries gram négatives</b> |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i>        | <i>Escherichia coli</i>             |
| <i>Bacillus cereus</i>              | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>       |
| <i>Bacillus subtilus</i>            | <i>Klebsiella sp</i>                |

#### **IV.2. Méthodes**

##### **IV.2.1. Extraction des composés phénoliques par macération hydro-méthanolique**

L'extraction par macération est l'une des méthodes d'extraction les plus utilisées pour l'obtention des métabolites secondaires des plantes médicinales.

La macération consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide.

Un poids de 10g de matériel végétal (algue en poudre) est mélangé avec 100 ml de méthanol /eau (70/30 : v/v) le mélange est laissé séjourner, à l'obscurité à température ambiante pendant 24h puis il est filtré à l'aide de papier Wattman.

L'extraction répète trois fois pour épuiser le matériel végétal et récolter le maximum des composés, L'extrait obtenu est concentré sous vide à 45°C par rotavapeur jusqu'à l'évaporation de méthanol. Les extraits ont été transférés dans un four à air chaud, où ils ont été séchés à 40 °C et stockés et conservés dans un flacon sombre à 4 °C. Une partie de l'extrait a été utilisée

pour l'analyse phytochimique tandis que le reste a été utilisé pour le test de sensibilité bactérienne. (Ali et Doumandji, 2017).

#### **IV.2.1.1. Calcul des rendements d'extraits secs**

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage du principe actif dissout dans le solvant organique utilisé pour l'extraction. Déterminé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche rendue en poudre utilisée pour l'extraction (Abe *et al.*, 2010).

Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche selon la formule :

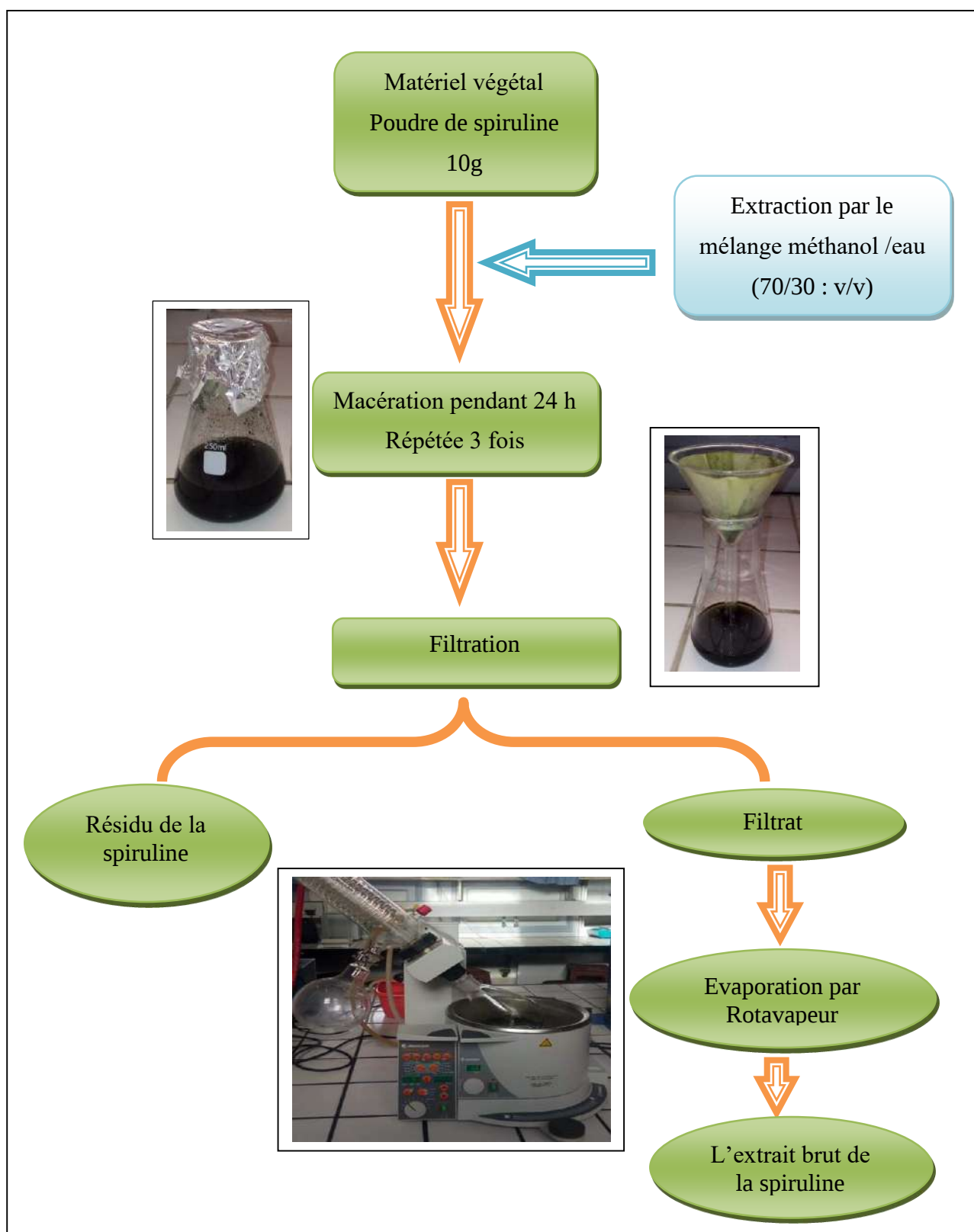
$$R (\%) = [M1 / M0] \times 100.$$

R % : Rendement en extraits exprimée en g /100g de matière sèche.

M1 : quantité d'extrait récupérée exprimée en g.

M0 : quantité de la poudre végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g (Abe E *et al.*, 2010).

Le dispositif expérimental adopté pour la réalisation de cette partie de travail est représenté par la figure 5.



**Figure 05 :** Protocole d'extraction hydrométhanolique à partir de la poudre de spiruline des extraits bruts par macération.

#### **IV.2.2. Tests phytochimiques**

La phytochimie qualitative basé sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisées sur les extraits reconstitués à partir de la poudre lyophilisée de chaque échantillon pour une première estimation des données préliminaires sur les constituants des extraits. Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux : les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tanins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les terpènes (**Bougandoura, 2010**).

##### ✓ **Tanins**

Les tanins sont mis en évidence à partir de 1 ml de l'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub>. Après agitation de l'extrait sont incubés pendant 15 min à 50°C, la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (**Vijayakumari et al., 2013**).

##### ✓ **Flavonoïdes**

1ml d'extrait est mélangé avec 1ml d'acide chlorhydrique concentré plus quelques copeaux de Magnésium. L'apparition d'une coloration rouge, orange ou rose indique la présence de flavonoïdes (**Karumi et al., 2004 ; Benariba et al., 2013**).

##### ✓ **Coumarines**

Les coumarines sont révélées à partir de 2 ml d'extrait placé dans un tube est ajouté à 3ml de NaOH (10%), après agitation de l'extrait, la formation d'une couleur jaune indique la présence de coumarines (**Seladji et al., 2013**).

##### ✓ **Anthocyanes**

Les anthocyanes sont détectés en plaçant 5m d'extrait dans un tube auquel en ajoute 15ml d'H<sub>2</sub>HSO<sub>4</sub> à 10% (Milieu acide), après agitation, le mélange est ajouté à 5ml NH<sub>4</sub>OH à 10% (Milieu basique). La présence d'anthocyanes est affirmée par une coloration bleu violacée en milieu basique (**Savithramma et al., 2011**).

✓ **Anthraquinones**

Pour la détection des anthraquinones, 10 ml d'extrait sont ajoutés à 5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 10%. Après agitation de quelques minutes, l'apparition d'un anneau rouge ou une coloration violette indique la présence d'anthraquinones (**Samejo et al., 2013**).

✓ **Alcaloïdes**

5 ml d'acide chlorhydrique à 1% plus 1ml de chaque extrait, ensuite le mélange est chauffé au bain marie puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par 5 gouttes de réactif de Mayer, l'autre par 5 gouttes de réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (**Karumi et al., 2004 ; Benariba et al., 2013**).

✓ **Terpénoïdes**

5 ml d'extrait est ajouté à 2 ml de Chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence de terpénoïdes (**Karumi et al., 2004 ; Benariba et al., 2013**).

✓ **Saponosides (test de mousse)**

Dans un tube à essai, 10 ml de l'extrait aqueux est agité énergétiquement pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante supérieur à 1 cm indique la présence de saponosides (**Karumi et al., 2004 ; Benariba et al., 2013**).

### **IV.2.3. Préparation des cultures bactériennes**

#### **IV.2.3.1. Préparation de culture pure de 24 heures**

##### **a -Revivification des souches**

On aensemencé 5 ml de bouillon nutritif à partir des souches bactériennes conservées. Ces derniers sont incubés à une température de 37°C pendant 24h. Cette étape contribue à l'enrichissement et la revivification des souches.

### **b - Repiquage**

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries de manière à obtenir des colonies isolées, puis incubées à une température de 37°C pendant 24 heures. Cette étape permet la purification des souches bactériennes.

### **IV.2.3.2. Normalisation des micro-organismes**

L'activité de tout agent antimicrobien dépend de la densité de la suspension cellulaire de la souche cible utilisée, d'où la nécessité de standardiser l'inoculum bactérien.

Chacune culture pure de 24 heures a été suspendue dans un tube contenant 5 ml de sérum physiologique, la densité optique des suspensions a été ajustée de 0.08 à 0.1, lue à 620 nm, ce qui correspond à une densité cellulaire voisine à celle de 0,5 Mc Farland. On obtient alors des inoculum estimés de  $10^6$  à  $10^8$  unités formant colonies par millilitre (UFC/ ml) (**Mala et al., 2009**).

### **IV.2.4. Les activités antibactériennes de l'extrait de spiruline**

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de la spiruline, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur gélose par 2 techniques de disques et de puits.

#### **IV.2.4.1. Principe de la méthode d'évaluation antibactérienne**

##### **a. Méthode de diffusion sur disques**

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (**Pibiri, 2006**).

L'aromatogramme se réfère à la diffusion d'un agent antimicrobien d'une concentration spécifique à partir de disques dans le milieu de culture solide, qui a étéensemencé avec l'inoculum. La méthode est basée sur la détermination d'une zone d'inhibition proportionnelle à la sensibilité bactérienne à l'antimicrobien présent dans le disque. La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu de cultureensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien.

Quand la concentration de l'antimicrobien devient si diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée (**Manuel terrestre de l'OIE, 2008**).

Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (**Pibiri, 2006**).

Les disques devraient être distribués de sorte que les zones d'inhibition autour des disques ne se chevauchent pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée. La méthode des disques est facile à mettre en œuvre, reproductible et ne nécessite pas d'équipement onéreux (**Manuel terrestre de l'OIE, 2008**).

#### **b. Méthode de diffusion sur puits**

Proposé par Cooper et Woodman en 1946, reprise par Shroder et Messing (1949), elle mesure une diffusion radiale de l'extrait à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne. Elle consiste à découper un tronc circulaire vertical dans la gélose et d'y verser une solution d'extrait de concentration connue (**Hellal, 2011**).

#### **IV.2.4.2. Préparation des extraits de la spiruline de différentes concentrations**

Pour tester l'activité antimicrobienne les extraits ont été mélangés avec du diméthylsulfoxyde (DMSO) et ajustés à une concentration de 1, 10, 25, 50, 75 et 100 mg / ml.

#### **IV.2.4.3. Activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque en papier**

##### **➤ Préparation des disques imbibés de spiruline**

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques à base de papier wattman n° 3 de 6 mm de diamètre stériles (stérilisation à 120°C pendant 20 min par autoclavage) ont été imbibés par les extraits de la spiruline de différentes concentrations (1, 10, 25, 50, 75 et 100 mg / ml) à raison de 50 µl par disque (**Hellal, 2011**).

➤ **Application des disques et lecture**

Dans les conditions aseptiques 20 ml de milieu de gélose Mueller-Hinton fondu ont été versé dans des boîtes de Pétri stériles et laissé se solidifier sur la paillasse.

Les boîtes de pétri contenant de gélose Mueller-Hinton sont inondées séparément par 1 ml d'une suspension bactérien de  $10^8$  UFC (unité formant colonie)/ml à l'aide d'une pince stérile, des disques stériles de papier wattman de 6 mm de diamètre sont déposés sur la surface de la gélose Mueller-Hinton (6 disques/boîte). Puis on laisse sur la paillasse pendant 30 minutes pour que le composé se diffuse correctement.

Les boîtes sont incubées à 37° pendant 18 à 24h

Des disques imprégnés de DMSO et des disques d'antibiotiques chargés de 30 µg de gentamicyne sont utilisés en tant que témoins négatifs et positifs. Les boîtes de Pétri ensuite sont incubées à l'étuve à 37 °C pendant 18 et 24 heures.

L'activité antibactérienne de l'extrait de spiruline testé est déterminée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition obtenues au contact et autour des disques. Tout dépend les valeurs des références en évalue l'effet de notre extrait :

Soit une action bactéricide où nous ne remarquons aucune croissance microbienne autours les disques.

Soit une action bactériostatique, dont il y'a des zones d'inhibition autour des disques disposés sur la surface de milieu de culture.

Soit aucune action observée : pas d'effet bactéricide.

Tous les tests doivent être réalisés en triplicata avec calcul des valeurs moyennes (**Mala *et al.*, 2009 ;Trabelsi *et al.*, 2010; Ahsan., *et al.*, 2015 ; Ali et Doumandji, 2017; El-Monem., *et al.*, 2018).**

**IV.2.4.4. Activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur puits d'agar**

Dans les conditions aseptiques 20 ml de milieu de gélose Mueller-Hinton fondu ont été versé dans des boîtes de Pétri stériles et laissé se solidifier sur la paillasse.

Les boîtes de pétri contenant de gélose Mueller-Hinton sont inondées séparément par 1 ml d'une suspension bactérien de  $10^8$  UFC/ml. A l'aide d'une pipette pasteur stérile, des puits de 6 mm de diamètre sont réalisées dans la gélose Mueller-Hinton (6 puits/boite). 50 ul des extraits de *S. platensis* à diverses concentrations ont été ajoutés dans chaque puits respectifs du milieuensemencé et laissée au repos sur la paillasse pendant 30 minutes pour une bonne diffusion.

Les boites sont incubées à 37°C pendant 18 à 24h. Après incubation, la zone d'inhibition autour du puits a été observée et tabulée (**Obeidat., et al., 2012 ; Manigandan et Kolanjinathan, 2017**).

Des puits rempli de DMSO et des puits rempli d'antibiotiques chargés de 30 µg de gentamicine sont utilisés en tant que témoins négatifs et positifs.

L'activité antibactérienne de l'extrait de spiruline testé est déterminée par la mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition obtenues au contact et autour des puits. Tout dépend les valeurs des références en évaluer l'effet de notre extrait (action bactéricide ou action bactériostatique) (**Al-ghanayem, 2017**).

Le dispositif expérimental adopté pour la réalisation de cette partie de travail est représenté par la figure 6.

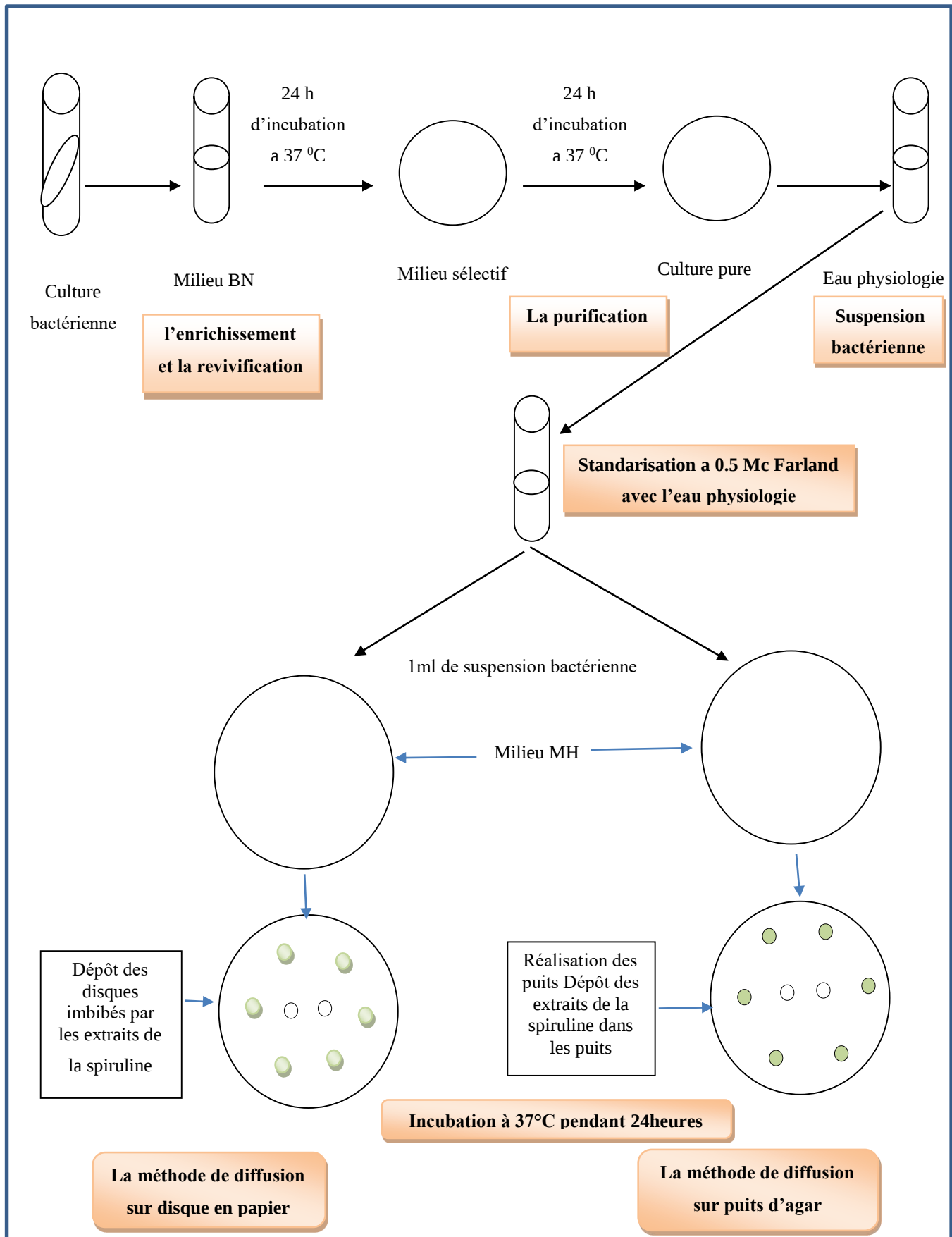


Figure 06 : Activité antibactérienne des extraits de la spiruline

*Chapitre V :*

***RESULTATS ET***

***DISCUSSION***

## Chapitre V : RESULTATS ET DISCUSSION

### V.1. RESULTATS

#### V.1.1. Identification des deux souches de spiruline

Les échantillons de spiruline ont été identifiés sur la base de l'identification morphologique. Les cellules de micro algues ont été observées au microscope optique (Photos 04 et photo 05).



(a) (G\*10)



(b) (G\*40)



(c) (G\*100)

**Photo 04 :** Cellules de *Spirulina platensis* souche Tchadienne observées au microscope optique



(a) (G\*10)



(b) (G\*40)



(c) (G\*100)

**Photo 05 :** Cellules de *Spirulina platensis* souche Algérienne observées au microscope optique

Les deux souches de spiruline apparaissent sous différentes formes :

- Forme spiralée pour la souche Tchadienne.
- Forme droite pour la souche Algérienne.

#### V.1.2. Couleurs et rendements d'extraction

La macération de 10 g de la poudre de *Spirulina platensis* (souche tchadienne) dans la solution hydro-méthanolique a permis d'obtenir un extrait sec de couleur verte foncée après avoir été séché au Rotavapor.

Le rendement de l'extrait a été déterminé par rapport au matériel végétal sec. Les résultats du calcul du rendement massique et le pourcentage obtenus sont reportés dans le tableau 09.

**Tableau 09** : Rendement d'extraction à partir de la souche Tchadienne.

| Le rendement | rendement massique | pourcentage obtenu |
|--------------|--------------------|--------------------|
| Résultat     | 0.99 g             | 9.9 %              |

Le rendement de l'extrait hydro-méthanolique de *Spirulina platensis* obtenu dans cette étude est 9.9 %.

#### V.1.3. Tests phytochimiques

Une investigation phytochimique préliminaire a été entreprise et a permis de mettre en évidence divers métabolites secondaires. Le tableau (10) et la photo (06) regroupent les résultats des tests phytochimiques effectués sur l'extrait hydro-méthanolique de *Spirulina platensis*.

**Tableau 10** : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur la spiruline.

| Origine de la spiruline                                       |                | Souche Tchadienne     | Souche Algérienne     |
|---------------------------------------------------------------|----------------|-----------------------|-----------------------|
| Le solvant utilisé pour l'extraction des composés phénoliques |                | Hydro<br>Méthanolique | Hydro<br>Méthanolique |
| Méthode d'extraction                                          |                | Macération            | Macération            |
| Tests phytochimiques                                          | Tanins         | +++                   | Nt                    |
|                                                               | Flavonoïdes    | —                     | Nt                    |
|                                                               | Coumarines     | +++                   | Nt                    |
|                                                               | Anthocyanes    | —                     | Nt                    |
|                                                               | Anthraquinones | —                     | Nt                    |
|                                                               | Saponosides    | +++                   | Nt                    |
|                                                               | Terpénoïdes    | ++                    | Nt                    |
|                                                               | Alcaloïdes     | +                     | Nt                    |

**Légendes** - : absence totale      + : présence en trace      ++ : présence en quantité abondante  
 +++ : Présence en quantité très abondante      Nt : Non testé



**Photo 06 :** Tests phytochimiques de *Spirulina platensis* (Souche Tchadienne).

Les résultats expérimentaux du criblage phytochimique obtenus à partir de poudre épuisées par le méthanol (70%) mentionnés dans le tableau (10) et dans la photo (06) montrent la présence des alcaloïdes et des terpénoïdes ainsi que la présence des tanins, des coumarines et des saponosides en quantité importante. Cependant les tests des flavonoïdes, des anthocyanes et des anthraquinones produit une inférence négative.

La spiruline excrète des quantités variables des produits de son métabolisme tels que les acides organiques et les vitamines (**Sánchez *et al.*, 2003**).

De façon générale, les familles chimiques détectées dans notre étude viennent confirmer les travaux de **Arun *et al.*, 2012; Ali et Doumandji, 2017 et Dahikar, 2018**. Ces derniers ont mis en évidence la richesse de la spiruline en composés bioactifs et les résultats de leur études sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 11** : Résultats des tests phytochimiques de *Spirulina platensis* des études précédentes

|                         |             |                                                               |            |               |                        |
|-------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------|------------|---------------|------------------------|
| Origine de la Spiruline |             | Article 1 (Arun et al., 2012) : Inde                          |            |               |                        |
|                         |             | Article 2 (Ali et Doumandji, 2017) : Tchad                    |            |               |                        |
|                         |             | Article 3 (Dahikar, 2018) : Lac de Lonar                      |            |               |                        |
|                         |             | Le solvant utilisé pour l'extraction des composés phénoliques |            |               | Références             |
|                         |             | Acétone                                                       | Méthanol   | Ethanol       |                        |
| Méthode d'extraction    |             | Macération                                                    | Macération | Macération    | Arun et al., 2012      |
|                         |             | Soxlet                                                        | Macération | Soxlet hexane | Ali et Doumandji, 2017 |
|                         |             | Macération                                                    | Macération | Macération    | Dahikar, 2018          |
| Tests phytochimiques    | Tanins      | Nt                                                            | Nt         | Nt            | Arun et al., 2012      |
|                         |             | —                                                             | —          | Nt            | Ali et Doumandji, 2017 |
|                         |             | —                                                             | —          | —             | Dahikar, 2018          |
|                         | Flavonoïdes | —                                                             | —          | Nt            | Arun et al., 2012      |
|                         |             | +                                                             | +          | Nt            | Ali et Doumandji, 2017 |
|                         |             | +                                                             | —          | +             | Dahikar, 2018          |
|                         | Saponosides | —                                                             | —          | Nt            | Arun et al., 2012      |
|                         |             | Nt                                                            | Nt         | Nt            | Ali et Doumandji, 2017 |
|                         |             | +                                                             | +          | +             | Dahikar, 2018          |
|                         | Terpénoïdes | Nt                                                            | Nt         | Nt            | Arun et al., 2012      |
|                         |             |                                                               |            |               |                        |
|                         |             |                                                               |            |               |                        |

|  |            |   |   |    |                        |
|--|------------|---|---|----|------------------------|
|  |            | — | — | Nt | Ali et Doumandji, 2017 |
|  |            | — | — | —  | Dahikar, 2018          |
|  | Alcaloïdes | — | — | Nt | Arun et al., 2012      |
|  |            | + | + | Nt | Ali et Doumandji, 2017 |
|  |            | + | + | +  | Dahikar, 2018          |

**Légende :** - : absence ; + : présence ; Nt : Non testé.

Les résultats de l'analyse phytochimique des extraits acétonique, méthanolique et éthanolique de *Spirulina platensis* ont révélé :

- L'absence **des Tanins** et **des Terpénoïdes** dans tous les extraits et pour les trois études.
  - La présence des **flavonoïdes** dans l'extraits acétonique, et méthanoliques Selon **Ali et Doumandji, 2017** et au contraire elles sont absent dans ces extraits Selon **Arun et al., 2012**.

Selon **Dahikar, 2018** les flavonoïdes sont présents dans tous les extraits sauf l'extrait méthanolique.

- **Saponosides** sont présent dans tous les extraits selon **Dahikar, 2018**. Par contre elle sont absent dans l'extraits acétonique, et méthanoliques selon **Arun et al., 2012**
- **Les Alcaloïdes** sont présents dans tous les extraits selon **Dahikar, 2018**. Elles sont présent dans l'extraits acétonique, et méthanoliques selon **Ali et Doumandji, 2017** mais elles sont absent dans ces extraits selon **Arun et al., 2012**

#### V.1.4. L'activité antibactérienne des extraits de la spiruline

Plusieurs études expérimentales ont montré que *Spirulina platensis* a une activité antimicrobienne.

Les résultats obtenus par certaines de ces études concernant l'activité antibactérienne produite par la cyanobactérie *Spirulina platensis* contre trois bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*), et trois bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* sp) sont présentés dans le tableau 12 et

les figure 07 et 08 où on a choisi 4 études pour faire une comparaison entre elles et avec les antibiotiques.

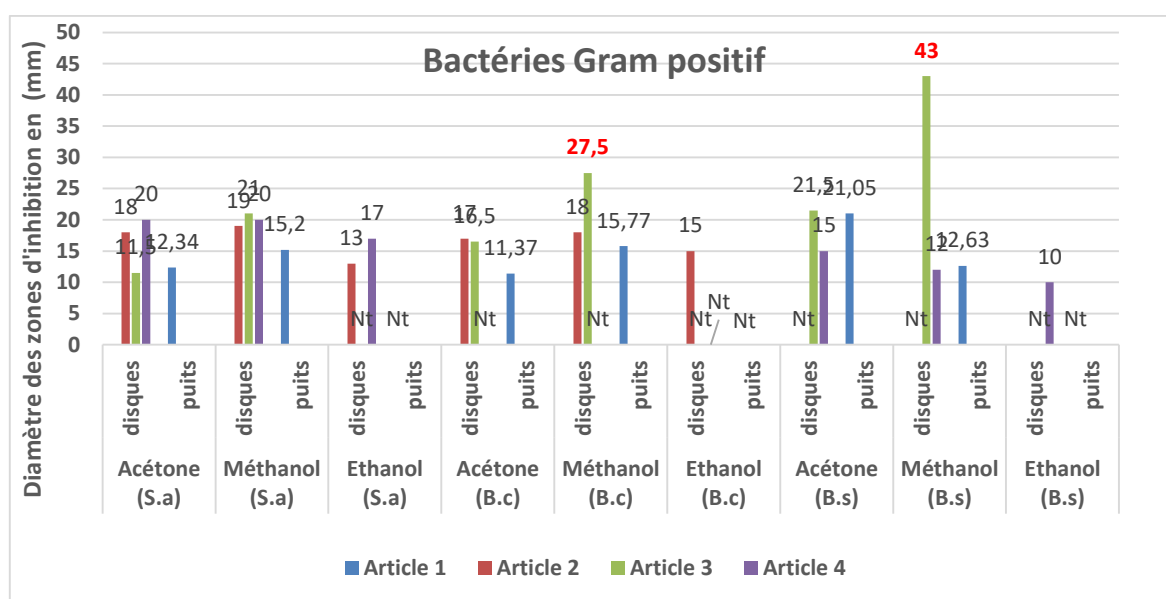
**Tableau 12 :** Diamètres des zones d'inhibition des extraits de la spiruline sur six souches bactériennes.

|                                        |                              | Le solvant utilisé pour l'extraction des composés phénoliques |        |          |        |          |        | Référence                                        |
|----------------------------------------|------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------|----------|--------|----------|--------|--------------------------------------------------|
|                                        |                              | Acétone                                                       |        | Méthanol |        | Ethanol  |        |                                                  |
| Méthode d'ATB                          |                              | Disques                                                       | Puits  | Disques  | Puits  | Disques  | Puits  |                                                  |
| Concentration d'extrait/disque ou puit |                              |                                                               | 5mg/ml |          | 5mg/ml |          | 5mg/ml | Article1 : <b>Rao <i>et al.</i>, 2010</b>        |
|                                        |                              | 5mg/ml                                                        |        | 5mg/ml   |        | 5mg/ml   |        | Article 2 : <b>Usharani <i>et al.</i>, 2015</b>  |
|                                        |                              | 200mg/ml                                                      |        | 200mg/ml |        | 200mg/ml |        | Article 3 : <b>Ali et Doumandji, 2017</b>        |
|                                        |                              | 5mg/ml                                                        |        | 5mg/ml   |        | 5mg/ml   |        | Article 4 : <b>El-Monem <i>et al.</i> , 2018</b> |
| Zone d'inhibition (mm)                 | <i>Staphylococcus aureus</i> |                                                               | 12.34  |          | 15.20  |          | Nt     | Article 1 : <b>Rao <i>et al.</i>, 2010</b>       |
|                                        |                              | 18                                                            |        | 19       |        | 13       |        | Article 2 : <b>Usharani <i>et al.</i>, 2015</b>  |
|                                        |                              | 11.5                                                          |        | 21       |        | Nt       |        | Article 3 : <b>Ali et Doumandji, 2017</b>        |
|                                        |                              | 20                                                            |        | 20       |        | 17       |        | Article 4 : <b>El-Monem <i>et al.</i> , 2018</b> |

|                               |      |       |      |       |    |    |                                    |
|-------------------------------|------|-------|------|-------|----|----|------------------------------------|
| <i>Bacillus cereus</i>        |      | 11.37 |      | 15.77 |    | Nt | Article 1 : Rao et al., 2010       |
|                               | 17   |       | 18   |       | 15 |    | Article 2 : Usharani et al., 2015  |
|                               | 16.5 |       | 27.5 |       | Nt |    | Article 3 : Ali et Doumandji, 2017 |
|                               | Nt   |       | Nt   |       | Nt |    | Article 4 : El-Monem et al., 2018  |
| <i>Bacillus subtilis</i>      |      | 21.05 |      | 12.63 |    | Nt | Article 1 : Rao et al., 2010       |
|                               | Nt   |       | Nt   |       | Nt |    | Article 2 : Usharani et al., 2015  |
|                               | 21.5 |       | 43   |       | Nt |    | Article 3 : Ali et Doumandji, 2017 |
|                               | 15   |       | 12   |       | 10 |    | Article 4 : El-Monem et al., 2018  |
| <i>Escherichia coli</i>       |      | 0     |      | 0     |    | Nt | Article 1 : Rao et al., 2010       |
|                               | 16   |       | 18   |       | 16 |    | Article 2 : Usharani et al., 2015  |
|                               | 23.5 |       | 16   |       | Nt |    | Article 3 : Ali et Doumandji, 2017 |
|                               | 20   |       | 10   |       | 10 |    | Article 4 : El-Monem et al., 2018  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |      | 0     |      | 0     |    | Nt | Article 1 : Rao et al., 2010       |

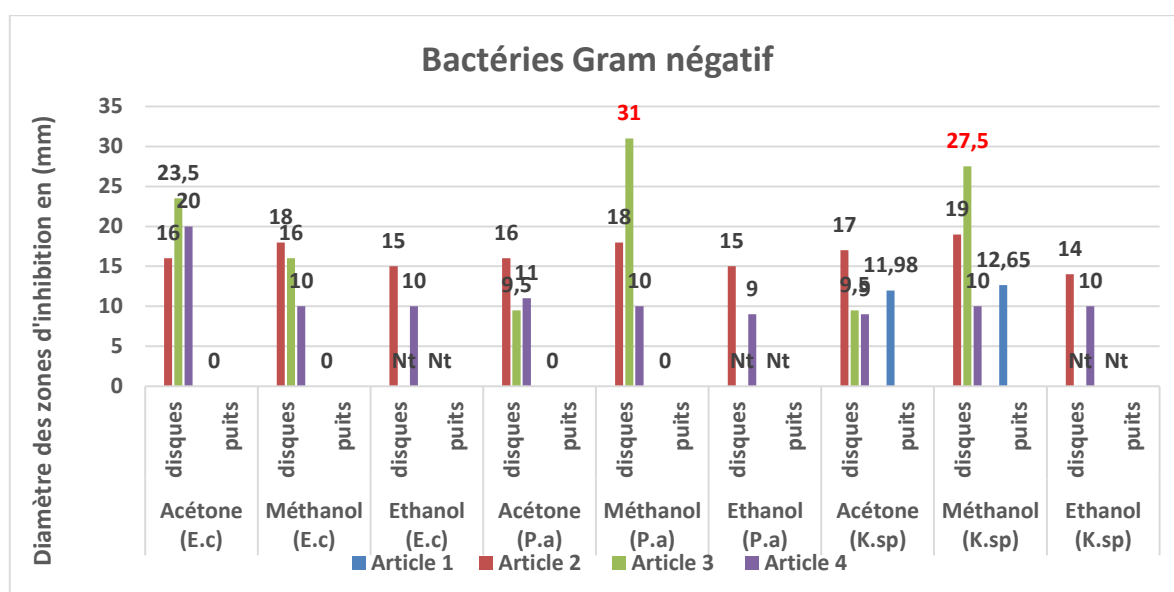
|  |                      |     |       |      |       |    |    |                                               |
|--|----------------------|-----|-------|------|-------|----|----|-----------------------------------------------|
|  |                      | 16  |       | 18   |       | 15 |    | Article 2 : Usharani<br><i>et al.</i> , 2015  |
|  |                      | 9.5 |       | 31   |       | Nt |    | Article 3 : Ali et<br>Doumandji, 2017         |
|  |                      | 11  |       | 10   |       | 9  |    | Article 4 : El-<br>Monem <i>et al.</i> , 2018 |
|  | <i>Klebsiella sp</i> |     | 11.98 |      | 12.65 |    | Nt | Article 1 : Rao <i>et al.</i> , 2010          |
|  |                      | 17  |       | 19   |       | 14 |    | Article 2 : Usharani<br><i>et al.</i> , 2015  |
|  |                      | 9.5 |       | 27.5 |       | Nt |    | Article 3 : Ali et<br>Doumandji, 2017         |
|  |                      | 9   |       | 10   |       | 10 |    | Article 4 : El-<br>Monem <i>et al.</i> , 2018 |

Légende : Nt : Non testé.



**Figure 07 :** Effet des extraits de *Spirulina plantensis* sur trois bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*).

**Légende :** Article 1 : Rao *et al.*, 2010 ; Article 2 : Usharani *et al.*, 2015 ; Article 3 : Ali et Doumandji, 2017 ; Article 4 : El-Monem *et al.*, 2018 ; S.a : *Staphylococcus aureus* ; B.c : *Bacillus cereus* ; B.s : *Bacillus subtilis* ; Nt : Non testé.



**Figure 08 :** Effet des extraits de *Spirulina plantensis* sur trois bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella sp.*).

**Légende :** Article 1 : Rao *et al.*, 2010 ; Article 2 : Usharani *et al.*, 2015 ; Article 3 : Ali et Doumandji, 2017 ; Article 4 : El-Monem *et al.*, 2018 ; E.c : *Escherichia coli* ; P.a : *Pseudomonas aeruginosa* ; K.sp : *Klebsiella sp.* ; Nt : Non testé.

Les trois extraits de la spiruline (extrait acétonique, méthanolique et éthanolique) ont eu un effet positif, exprimé par l'importance des zones d'inhibition de la plus part des souches bactériennes testées (Figures 07, 08).

Les meilleurs résultats sont obtenus par **Ali et Doumandji (2017)** suivi par les résultats de **Usharani et al (2015)** puis les résultats d' **El-Monem et al (2018)** et finalement les résultats de **Rao et al (2010)**.

L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du puits ou du disque de papier imprégné par les extraits étudiés.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

Les extraits éthanolique, acétonique et méthanolique de *Spirulina platensis* à des différentes concentrations ont montré différentes plages de zones d'inhibition.

D'une manière générale lorsque la concentration de l'extrait est augmentée, une activité inhibitrice accrue est observée.

Cependant l'extrait **méthanolique** de la spiruline a montré un large spectre d'activité ayant révélé la zone d'inhibition la **plus élevée** de 43 et 27,5 mm, respectivement contre *B. subtilis* et *B. cereus* de Gram positif alors que le diamètre de cette zone est de 31 et 27,5 mm, respectivement contre *Pseudomonas* et *Klebsiella* de Gram négatif. L'extrait acétonique a conduit à l'apparition d'une zone d'inhibition de 23.5, 21.5 et 20 mm, respectivement contre *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, et *Staphylococcus aureus*.

La zone **minimale** d'inhibition obtenue à partir de l'extrait **éthanolique** de spiruline contre la majorité des souches pathogènes est beaucoup plus faible que celle observée en présence de l'extrait méthanolique 9, 10 et 10 mm, respectivement contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *B. subtilis*. Pour l'extrait acétonique de spiruline, des zones d'inhibition minimales obtenues pour la majorité des souches pathogènes plus faibles qu'en présence de l'extrait méthanolique 9, 11.37, 11.5 mm respectivement contre *Klebsiella sp*, *B. cereus* et *Staphylococcus aureus*.

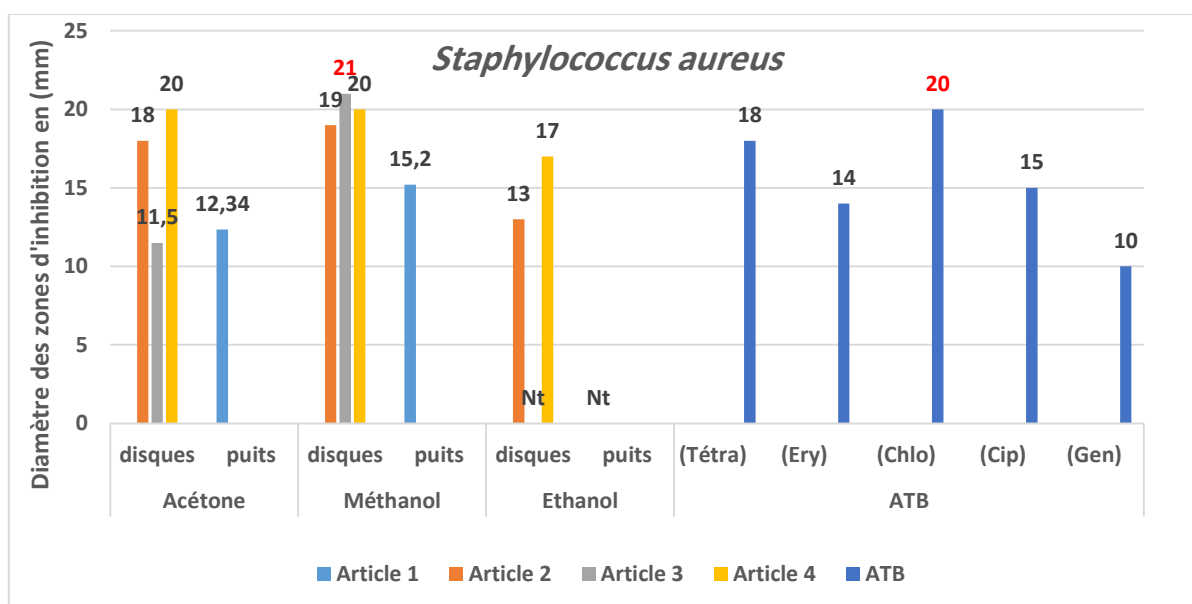
### V.1.5. Comparaison entre l'effet de la spiruline et l'effet des antibiotiques

La comparaison de l'effet antibactérien des extraits de spiruline sur les six souche bactériennes avec l'effet de six antibiotiques : Tétracycline (30 µg), Erythromycine (15 µg), Chloramphénicol (30 µg), Ciprofloxacine (5 µg), Gentamicine (10 µg) et Tobramycine (10µg) (annexe 1).

Les résultats de comparaison sont présentés dans les figures (09, 10, 11, 12, 13, 14).

#### ➤ Bactéries Gram positif

##### 1- *Staphylococcus aureus*



**Figure 09 :** Effet des extraits de *Spirulina plantensis* comparés aux antibiotiques sur *Staphylococcus aureus*.

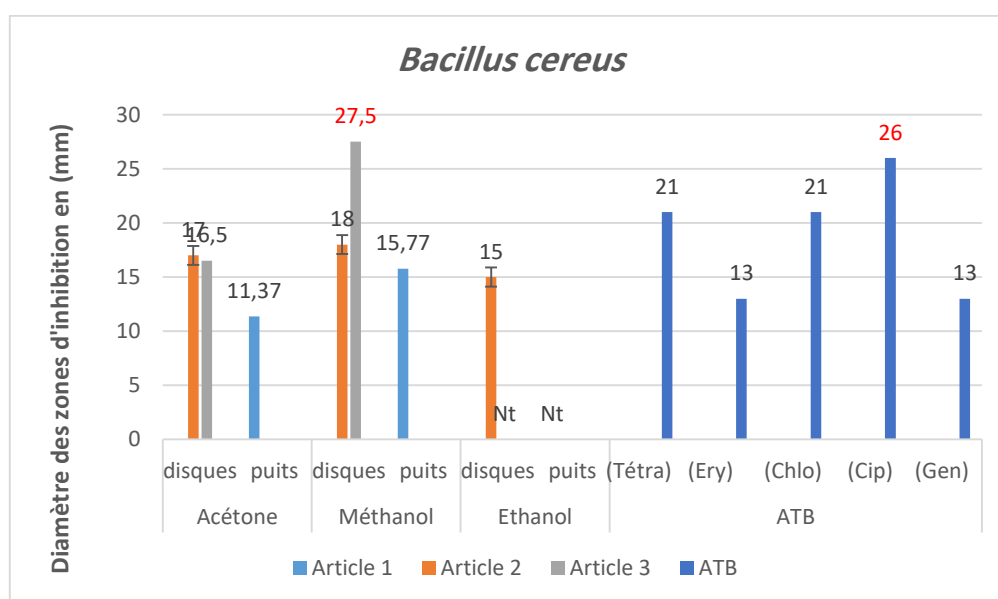
**Légende :** ATB : Antibiotique ; **Article 1 :** Rao *et al.*, 2010 ; **Article 2 :** Usharani *et al.*, 2015 ; **Article 3 :** Ali et Doumandji, 2017 ; **Article 4 :** El-Monem *et al.*, 2018 ; **Nt :** Non testé.

La plus grande zone d'inhibition obtenue par **Ali et Doumandji (2017)** avec l'extrait méthanolique de spiruline qui est 21mm suivie par les résultats d'**El-Monem et al (2018)** avec l'extrait acétonique et éthanolique qui est 20 mm. La zone minimale d'inhibition obtenue par **Ali et Doumandji (2017)** avec l'extrait acétonique qui est 11.5 mm.

Donc l'extrait méthanolique a un effet sur *Staphylococcus aureus* très actif par rapport aux antibiotiques testés (Chloramphenicol (30 µg), Tétracycline 30 µg, Erythromycin (15 µg), Ciprofloxacine (5µg), Gentamicin (10 µg)).

Il est possible que l'extrait méthanolique de *Spirulina plantensis* peut être une alternative à ces antibiotiques.

## 2- *Bacillus cereus*



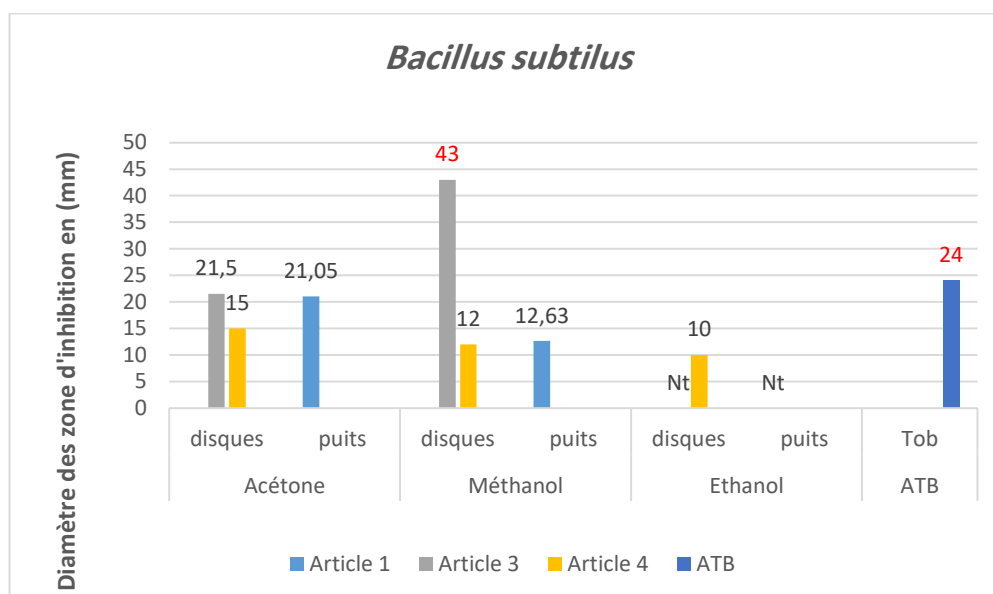
**Figure 10 :** Effet des extraits de *Spirulina plantensis* comparés aux antibiotiques sur *Bacillus cereus*.

**Légende :** ATB : Antibiotique ; **Article 1 :** Rao *et al.*, 2010 ; **Article 2 :** Usharani *et al.*, 2015 ; **Article 3 :** Ali et Doumandji, 2017 ; **Article 4 :** El-Monem *et al.*, 2018 ; **Nt :** Non testé.

La plus grande zone d'inhibition obtenue par **Ali et Doumandji (2017)** avec l'extrait méthanolique de *spirulina* qui est 27.5mm suivi par les résultats de **Usharani *et al* (2015)** avec l'extrait méthanolique qui est 18 mm. La zone minimale d'inhibition obtenue par **Rao *et al* (2010)** avec l'extrait acétonique qui est 11.37 mm.

L'extrait méthanolique est le plus actif pour inhiber la croissance de *Bacillus cereus* avec des zones d'inhibition supérieur à ces antibiotiques.

On peut dire que l'extrait méthanolique *Spirulina plantensis* peut être un alternatif naturelle à ces antibiotiques pour *Bacillus cereus*.

3- *Bacillus subtilis*

**Figure 11 :** Effet des extraits de *Spirulina plantensis* comparés aux antibiotiques sur *Bacillus subtilis*.

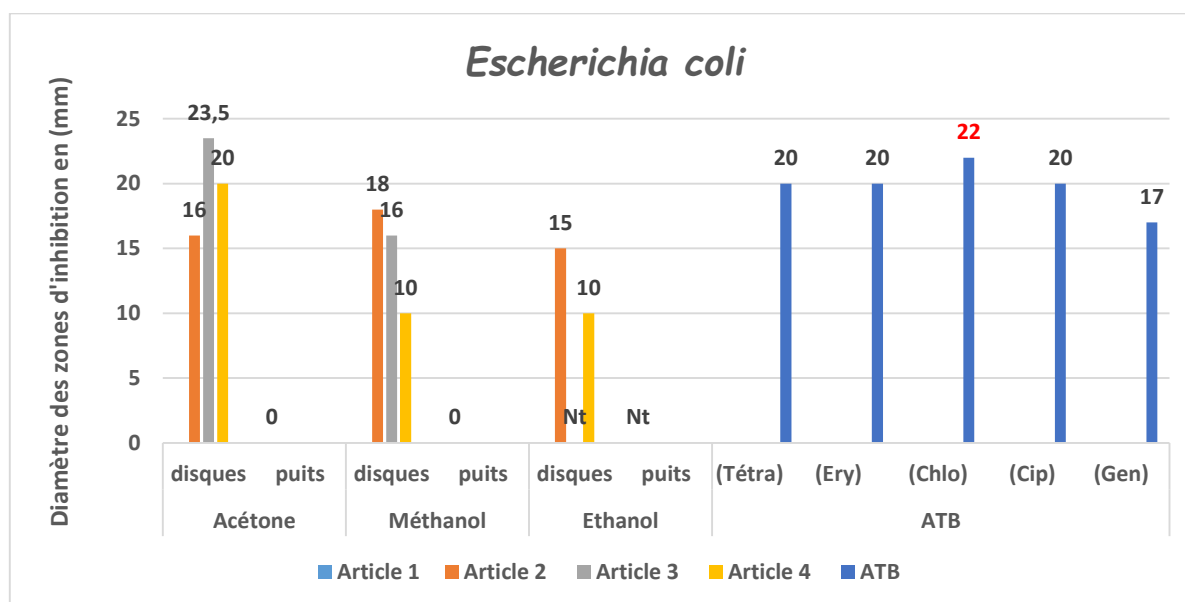
**Légende :** ATB : Antibiotique ; **Article 1 :** Rao *et al.*, 2010 ; **Article 2 :** Usharani *et al.*, 2015 ; **Article 3 :** Ali et Doumandji, 2017 ; **Article 4 :** El-Monem *et al.*, 2018 ; **Nt :** Non testé.

La plus grande zone d'inhibition obtenue par **Ali et Doumandji (2017)** avec l'extrait méthanolique de *spirulina* qui est 43mm suivi par l'extrait acétonique qui est 21.5 mm. La zone minimale d'inhibition obtenue par **El-Monem *et al* (2018)** avec l'extrait éthanolique qui est de 10 mm.

L'extrait méthanolique *Spirulina plantensis* est le plus actif pour inhiber la croissance de *Bacillus subtilis* avec du zone d'inhibition supérieur à cet antibiotique et peut être une alternative à celui-ci.

➤ Bactéries Gram négatif.

1- *Escherichia coli*



**Figure 12 :** Effet des extraits de *Spirulina plantensis* comparé aux antibiotiques sur *Escherichia coli*.

**Légende :** ATB : Antibiotique ; **Article 1 :** Rao *et al.*, 2010 ; **Article 2 :** Usharani *et al.*, 2015 ; **Article 3 :** Ali et Doumandji, 2017 ; **Article 4 :** El-Monem *et al.*, 2018 ; **Nt :** Non testé.

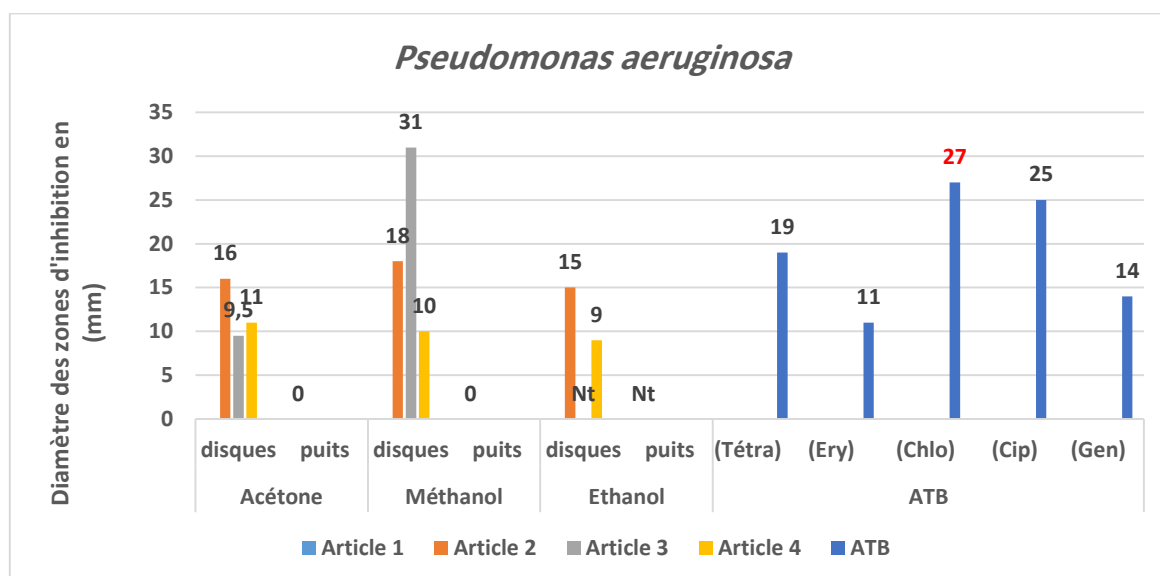
La plus grande zone d'inhibition obtenue par **Ali et Doumandji (2017)** avec l'extrait acétonique de spiruline qui est 23.5 mm suivi par les résultats de **El-Monem *et al* (2018)** avec l'extrait acétonique qui est 20mm. La zone minimale d'inhibition obtenue par **El-Monem *et al* (2018)** avec l'extrait éthanolique et méthanolique qui est de 10 mm.

En revanche *E.coli* semble résistante a les deux extraits acétonique, méthanolique, Selon **Rao *et al* (2010)**.

L'extrait acétonique de *Spirulina plantensis* a un effet très actif sur *E.coli* supérieur à ces antibiotiques pour *E.coli*.

On peut dire que l'extrait acétonique peut être un alternatif naturelle à ces antibiotiques pour *E.coli*.

## 2- *Pseudomonas aeruginosa*



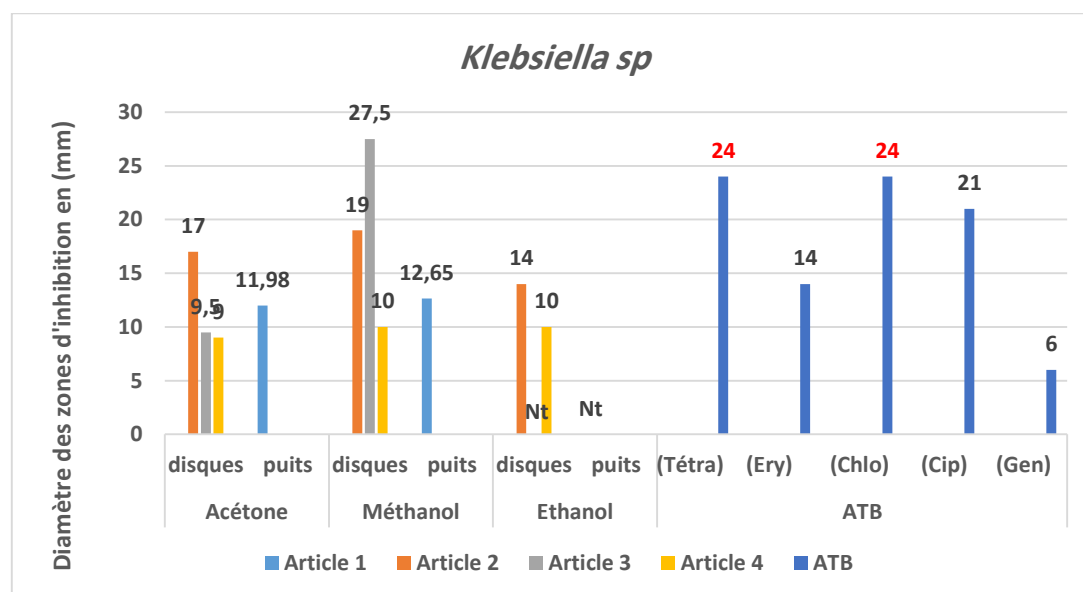
**Figure 13 :** Effet des extraits de *Spirulina plantensis* comparés aux antibiotiques sur *Pseudomonas aeruginosa*.

**Légende :** ATB : Antibiotique ; **Article 1 :** Rao *et al.*, 2010 ; **Article 2 :** Usharani *et al.*, 2015 ; **Article 3 :** Ali et Doumandji, 2017 ; **Article 4 :** El-Monem *et al.*, 2018 ; **Nt :** Non testé.

La plus grande zone d'inhibition obtenue par **Ali et Doumandji (2017)** avec l'extrait méthanolique de *spirulina* qui est 31mm suivi par les résultats d'Usharani et al (2015) avec l'extrait méthanolique qui est 18 mm. La zone minimale d'inhibition obtenue par **El-Monem et al (2018)** avec l'extrait éthanolique qui est de 9 mm.

Selon **Rao et al (2010)** *Pseudomonas aeruginosa* résistante a les deux extraits acétonique et méthanolique.

L'extrait méthanolique est le plus actif pour inhiber la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* avec des zones d'inhibition supérieur à ces antibiotiques.

3- *Klebsiella sp*

**Figure 14 :** Effet des extraits de *Spirulina plantensis* comparés aux antibiotiques sur *Klebsiella sp*.

**Légende :** ATB : Antibiotique ; **Article 1 :** Rao *et al.*, 2010 ; **Article 2 :** Usharani *et al.*, 2015 ; **Article 3 :** Ali et Doumandji, 2017 ; **Article 4 :** El-Monem *et al.*, 2018 ; **Nt :** Non testé.

La plus grande zone d'inhibition obtenue par **Ali et Doumandji (2017)** avec l'extrait méthanolique de *spirulina* qui est 27.5 mm suivi par les résultats de **Usharani *et al* (2015)** avec l'extrait méthanolique qui est 19mm. La zone minimale d'inhibition obtenue par **El-Monem *et al* (2018)** avec l'extrait acétonique qui est 9 mm.

L'extrait méthanolique est le plus actif pour inhiber la croissance de *Klebsiella sp* avec des zones d'inhibition supérieures à ces antibiotiques et peut être un alternatif à ces antibiotiques.

#### Remarque

Les résultats de l'activité antibactérienne obtenus par la méthode de disque sont plus importants que la méthode de puits.

La méthode de disque est considérée comme la méthode de référence la plus simple et la plus facile pour la manipulation dans l'étude de l'activité antibactérienne.

D'autre part, dans la méthode de puits, on peut jouer sur la quantité de l'extrait dans chaque puits, mais il y a une certaine difficulté dans cette méthode par rapport à la méthode de disques, surtout au niveau de manipulation.

## V.2. DISCUSSION

La particularité des formes des deux souches de spiruline étudiées (forme spiralée et forme droite) peut être en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat (**Charpy et al., 2008**).

Le rendement de l'extrait hydro-méthanolique de *Spirulina platensis* obtenu dans cette étude est comparable à celui obtenu par **Ali et Doumandji (2017)** qui est 9.88% pour l'extrait méthanolique.

De façon général, Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. En effet, la méthode d'extraction affecte également le contenu total en phénols et en flavonoïdes et l'activité antibactérienne (**Lee et al., 2003**).

Le criblage chimique des extraits de spiruline est une étape préliminaire très importante, puisqu'elle révèle la présence des constituants connus par leur activités physiologiques et possédant des vertus médicinales (**Chia et al., 2002**).

Les recherches effectuées sur les différents extraits révèlent la présence d'importants métabolites secondaires comme les flavonoïdes, les stéroïdes et les tannins, ainsi que les alcaloïdes qui ont caractérisé les extraits *Spirulina platensis*.

Du point de vue biologique, selon **Trabelsi et al** cette micro algue renferme des principes potentiellement actifs rencontrés comparable à celle des plantes. Ce sont des précurseurs de drogues très utiles en thérapie clinique.

La présence ou l'absence des métabolites secondaires dans les extraits de spiruline peut être due à :

- L'origine de la spiruline
- Le solvant d'extraction
- La méthode d'extraction

La mise en évidence des différentes classes de métabolites secondaires constituant la spiruline a permis d'avoir une bonne idée sur ses activités antibactériennes.

Compte tenu du nombre croissant de souches bactérienne résistantes aux antibiotiques, de nombreux travaux se sont intéressés, durant cette dernière décennie aux substances actives sécrétées par les cyanobactéries, comme une source potentielle de nouveaux produits d'intérêts pharmaceutique et médical (**Trabelsi et al., 2010**).

Les métabolites sécrétés par *Spirulina platensis* présentent des avantages supplémentaires dues au fait que cette espèce largement soit exploitée à l'échelle industrielle et de fait qu'elle ne produit pas des substances toxiques (**Trabelsi et al., 2010**).

*Spirulina platensis* est l'une des microalgues les plus importantes ayant une activité contre de nombreuses bactéries et champignons pathogènes (**Kumar et al., 2011**).

L'activité antibactérienne des métabolites extracellulaires a été identifiée chez d'autres cyanobactéries (*Nostoc commune*). Ce travail montre que cette activité est également présente chez *Spirulina platensis*. Elle serait cependant modérée en comparaison aux antibiotiques usuels, tels que la kanamycine. Toutefois, il faut rappeler que ces métabolites sont efficaces dans des traitements locaux d'infections épidermiques (oedème et eczéma), dans les utilisations traditionnelles par les peuplades du Ghanem au lac Tchad (**Brouers, 2004**).

D'après les résultats de comparaisons faites dans cette étude, tous les extraits testés présentent des activités antibactériennes variables contre les micro-organismes testés gram positif et gram négatif dont l'extrait méthanolique possède la meilleure activité antibactérienne pour la plus part des souches pathogènes testées. En revanche, l'extrait acétonique de spiruline présente une meilleure activité contre *E.coli*.

La différence d'activité des extraits contre les bactéries peut être due à des différences des propriétés physiologiques ou biochimiques des souches d'algues ou à différents biotopes ou les conditions de culture telles que la lumière, la température et le milieu (**Abedin et Taha, 2008**).

La procédure d'extraction peut également entraîner des différences d'activité antimicrobienne en raison de différences dans la nature du solvant, le moment de l'extraction ou la stabilité des composés antibactériens dans un solvant particulier (**Bhuvaneswari et al., 2013**).

L'activité antimicrobienne est liée à la quantité des composés phénoliques contenus dans l'extrait de *S.platensis* et leur concentration (**Rao et al., 2010**).

**Mundt et al, Ozdemir et al** Ont rapporté que l'activité antimicrobienne des micro algues contre certains organismes pathogènes pourrait être due à ses acides gras, acides gras insaturés hydroxylés, glycolipides et composés phénoliques.

Selon **Rao et al** les extraits non-polaires de certaines algues présentent une plus grande activité antimicrobienne que les polaires et leur activité peut également être attribuée à la présence des acides gras et des acides phénoliques liposolubles.

À faible concentration, les phénols auraient un effet sur l'activité enzymatique, en particulier les enzymes associées à la production d'énergie tandis qu'à forte concentrations, ils provoquent une dénaturation des protéines.

En outre l'effet des acides phénoliques et des acides gras sur la croissance microbienne pourrait être le résultat de la capacité de ces composés à altérer la perméabilité des cellules microbiennes conduisant à la perte des macromolécules de l'intérieur et pourrait être aussi interagir avec les protéines membranaires provoquant une déformation dans leur structure et fonctionnalité ainsi que d'affecter l'activité cellulaire comme indiqué par **Mundt et al (2003)**.

A partir de la comparaison entre l'effet antibactérien des extraits de *Spirulina platensis* et l'effet des antibiotiques contre les bactéries pathogènes il a été constaté que l'extrait méthanolique de spiruline peut être une alternative naturelle aux antibiotiques utilisés.

# *CONCLUSIONS*

## CONCLUSION

Au terme de notre étude portant sur l'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Spirulina platensis* contre six souches bactériennes, nous avons cherché à connaître les composés bioactifs contenues dans l'extrait de la spiruline, le meilleur solvant pour extraire ces composés bioactifs, la meilleure méthode d'antibiogramme qui peut être utilisée et par comparaison avec les résultats des antibiotiques nous jugeons si l'extrait de la spiruline peut être considérée comme un agent antibactérien alternatif aux antibiotiques.

Les résultats obtenus montrent que :

- La spiruline a une morphologie différente selon son origine, et on retrouve également une différence dans la qualité du métabolite secondaire qu'elle produit, mais en général le solvant hydro méthanolique est considéré comme le meilleur solvant pour extraire la plupart de ces composés.

- L'extrait méthanolique de *Spirulina platensis* donne l'effet le plus important contre les bactéries Gram positives et négatives testées et supérieur même à l'effet des antibiotiques.

Donc on peut dire que la spiruline peut-être un alternatif naturelle aux antibiotiques.

- La méthode de disque est la méthode la plus efficace de point de vue précision et simplicité de réalisation.

- D'après les résultats ci-haut, nous constatons que notre hypothèse est confirmée et nous avons répondu aux questions posées dans la problématique pour la souche Tchadienne.

## **PERSPECTIVES**

- Les résultats approuvés dans l'étude de l'activité antibactérienne sont à 80% des résultats d'études précédentes et c'est par ce que nous n'avons pas pu terminer la partie pratique de notre étude en raison de l'épidémie de virus Covid 19.

- La perfection n'étant pas dans ce monde, nous laissons la porte ouverte aux chercheurs qui aborderont ce domaine, de pouvoir compléter ce travail en vérifiant l'effectivité de l'activité de ce micro algue contre les infections bactériennes et le taux de leur toxicité.

- De développer un antibiotique (agent antimicrobien) à base de spiruline, sûr et prometteur avec moins d'effets secondaires pouvant substituer à des médicaments synthétiques.



*Références*  
*bibliographique*

**Références bibliographiques**

- **Abd-Alrassol, K. S., & Jasim, E. Q. (2019).** Spectrophotometric Determination of Some Phenolic Compounds by Formation of Copper (II) Complexes. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 571, No. 1, p. 012097). IOP Publishing.
- **Abedin, R. M., & Taha, H. M. (2008).** Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae. Evaluation of medium components by Plackett-Burman design for antimicrobial activity of *Spirulina platensis*. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 3(1), 22-31.
- **Abe, E., Delye, S. G., & Alvarez, J. C. (2010).** Extraction liquide-liquide: théorie, applications, difficultés. In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 22, No. 2, pp. 51-59). EDP Sciences.
- **Abreu, A. C., Mcbain, A. J., & Simoes, M. (2012).** Plants as sources of new antimicrobials and resistance-modifying agents. *Natural product reports*, 29(9), 1007-1021.
- **Afaa. (1982).** Association française pour l'algologie appliquée Actes du premier symposium sur la spiruline *Spirulina Platensis* (Gom.) Geitler de l'AFAA.
- **Ahounou M. N. (2018).** La spiruline : Un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation. Thèse pour l'obtention d'un Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université de Rouen, UFR de Médecine et de Pharmacie, p 17-27, 40, 43, 47, 48, 51.
- **Ahmed, E. A. (2016).** Antimicrobial activity of microalgal extracts isolated from Baharia Oasis, Egypt. *Glob Adv Res J Microbiol*, 5(3), 033-041.
- **Ahsan, S., et al. (2015).** In vitro antibacterial activity of *Spirulina platensis* extracts against clinical isolates of *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi (SUBP03). *Stamford Journal of Microbiology*, 5(1), 22-25.
- **Al-ghanayem, A. A. (2017).** Antimicrobial activity of *Spirulina platensis* extracts against certain pathogenic bacteria and fungi. *Advances in BioResearch*, 8(6).

- **Ali, I. H., & Doumandji, A. (2017).** Comparative phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activities of the cyanobacterium *Spirulina platensis* and the green alga *Chlorella pyrenoidosa*: potential application of bioactive components as an alternative to infectious diseases. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la Vie*, (39), 41-49.
- **Andreani C. G. (2012).** Algues et Cyanobactéries, Cours Dumenat Phyto-Aromathérapie, Faculté de Médecine Paris XIII, p 8, 9.
- **Arun, N., Gupta, S., & Singh, D. P. (2012).** Antimicrobial and antioxidant property of commonly found microalgae *Spirulina platensis*, *Nostoc muscorum* and *Chlorella pyrenoidosa* against some pathogenic bacteria and fungi. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(12), 4866.
- **Asres, K., Seyoum, A., Veeresham, C., Bucar, F., & Gibbons, S. (2005).** Naturally derived anti-HIV agents. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19(7), 557-581.
- **Banks J. (2007).** Etude de la Spiruline au Palacret, Etudier la Faisabilité de la Mise en Place d'une Filière Spiruline sur le site du Palacret, dans les Côtes d'Armor, Manuel, p 10, 11.
- **Barth et Leo. (2019).** Le Guide Complet de la Spiruline, Article scientifique, <https://naturalathleteclub.com/blog/savoir-spiruline-bienfaits>, 3, 5, 12, 21p.
- **Benariba N., et al. (2013).** phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts, *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3 (1): 35-40 .
- **Bhuvaneswari, G. R., et al. (2013).** Antibacterial Activity of *Spirulina* (*Arthospira platensis* Geitler) against Bacterial Pathogens in Aquaculture. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 65, 1-8.
- **Bougandoura, N. (2011).** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha spnepta* (nabta) et *Ajugaiva L.* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire magister en Biologie; université Tlemcen. P 51.

- **Borowitzka, M. A. (1992).** Algal biotechnology products and processes—matching science and economics. *Journal of applied phycology*, 4(3), 267-279.
- **Brouers, M. (2004).** Traditional use of Spirulina (*Arthrospira platensis*) in Chad. International Symposium: CSSD “Cyanobacteria for health, Science and Development”, Embiez Island France.
- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 2ème Ed. Lavoisier. Paris, 274-285.
- **CASAL, A. (2019).** l’Aliment Idéal et le plus Complet de Demain, Site web, [www.spirulinefrance.fr](http://www.spirulinefrance.fr).
- **Chakraborty, B., Jayaswal, R. P., & Pankaj, P. P. (2015).** Antimicrobial Activity of Spirulina platensis Extract Against Gram Positive and Gram Negative Bacteria-A Comparative Study. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*, 6(4), 212-214.
- **Chakraborty, B., Jayaswal, R. P., & Pankaj, P. P. (2014).** Evaluation of antibacterial activity of Spirulina platensis extracts against opportunistic pathogen model. *Drugs, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* .15; 6(4); 988-990.
- **Charpy., Langlande M. J., Alliod R. (2008).** La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique. *Rapport d'expertise pour le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche*. Institut de recherche pour le développement, Marseille, p 6, 16, 67.
- **Charlemagne Déborah. (2008).** La spiruline : aliment santé ? Mémoire DIU Alimentation Santé et Micronutrition de la faculté de pharmacie de Dijon. P11.
- **Chew, Y. L., Goh, J. K., & Lim, Y. Y. (2009).** Assessment of in vitro antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia. *Food chemistry*, 116(1), 13-18.
- **Cnera-Afssa. (2001).** coordinateur Martin A. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Paris :Lavoisier.
- **Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.

- **Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (Eds.). (2006).** *Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet.* John Wiley & Sons.
- **Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356.
- **D Archivio, M., et al. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.
- **Dahikar, SB. (2018).** Phytochemical screening and antibacterial activity of crude extracts of *Spirulina* species isolated from Lonar Lake. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences india*. 3(2), 43-47
- **Dargent L. (2009).** *Spirulina platensis et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques.* 175p Thèse disponiblesur:  
[http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA\\_T\\_2009\\_LAURENT-DARGENT\\_JONATHAN.pdf](http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA_T_2009_LAURENT-DARGENT_JONATHAN.pdf) (dernière consultation mars 2016).
- **Das, H. C., Wang, J. H., & Lien, E. J. (1994).** Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: A structure-system-activity relationship (SSAR) analysis. *Progress in Drug Research. Basel: Birkhauser Verlag, Journal of Food Engineering*, 69: 133-136.
- **El-Monem, A. M. A., Gharieb, M. M., Hussian, A. E. M., & Doman, K. M. (2018).** Effect of pH on phytochemical and antibacterial activities of *Spirulina platensis*. *International Journal of Applied Environmental Sciences*, 13(4), 339-35.
- **El-Sheekh, M. M., Daboor, S. M., Swelim, M. A., & Mohamed, S. (2014).** Production and characterization of antimicrobial active substance from *Spirulina platensis*. *Iranian Journal of Microbiology*, 6(2), 112.
- **Evoli Conseil. (2014).** « Culture et vente de Spiruline : Etude de faisabilité économique », p17, 18, 22, 24.
- **Flaquet, J, J.P Hurni. (2006).** spiruline aspects nutritionnelle, Antenna technologie, Genève.
- **Fox, R. D. (1999).** La spiruline : technique, pratique et promesse. Edition sud Aix-en Provence : 246. ISBN 2-7449-0100-8.

- **Garrrity.G-M. (2001).** (editor in chief).Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd editionvolume1. Taxonomic Outline of the Archaea and Bacteria. New York, Berlin, Heidelberg, Springer, pp.155-166.
- **Geitler, L. (1932).** Cyanophyceae. In: Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz, Leipzig, Akad. Verslagsges. 1932. Reprinted 1971, New York, Johnson. p. 1-1196).
- **Goulambasse, T. R. (2018).** La Spiruline : Activités Thérapeutiques et son Intérêt dans la Lutte contre la Malnutrition à Madagascar, Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie, université de Lille, p 9-16, 17, 25, 26. 46, 108, 109, 111, 112.
- **Gülçin, İ. (2010).** Antioxidant properties of resveratrol: a structure–activity insight. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 210-218.
- **Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., & Elias, R. (2004).** Antioxidant activity of saponins isolated from ivy:  $\alpha$ -hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F. *Planta medica*, 70(06), 561-563.
- **Gutiérrez-Salmeán, G., Fabila-Castillo, L., & Chamorro-Cevallos, G. (2015).** Aspectos nutricionales y toxicológicos de Spirulina (arthrospira). *Nutricion hospitalaria*, 32(1), 34-40.
- **Hacène, H., et al. (2001).** Essais de Production de Protéines d'organismes Unicellulaires (POU) par des Souches de Spirulina. Rev. Energ. Ren.: Production et Valorisation–Biomasse, 4p.
- **Hafiane,A., et Ravaoarinoro,M. (2008).** [Various typing methods of Pseudomonasaeruginosa strains isolated from cystic fibrosis patients]. *Med Mal Infect* 38: 238-247.
- **Hellal, Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus: Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magister." Biochimie appliquée et Biotechnologies". Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, p. 16-17.
- **Indumathi, A. (2016).** Comparative Study on the Antibacterial Activity of *S. platensis* and *Oscillatoria sp.* Grown Invitro. *International Journal Curr.Microbiol.* 3: 14-18.

- **0Jarisoa, T. (2005).** Adaptation de la spiruline du sud de madagascar a la culture en eau de mer. Mise au point de structures de production à l'échelle villageoise. p. 188.
- **Jourdan, J. (2014).** Manuel de culture artisanale de la spiruline.. Disponible sur <https://www.fichier-pdf.fr/2015/09/18/manuel-de-la-culture-artisanale-de-spiruline/manuel-de-la-culture-artisanale-de-spiruline.pdf> (dernière consultation janvier 2018)
- **Jourdan, J. P. (2006).** Cultivez votre spiruline. *Edt. Antenna Technologie: 146p* [http://www. antenna. ch/documents/manuelJourdan2061. pdf](http://www.antenna.ch/documents/manuelJourdan2061.pdf).
- **Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens P.F. (2002).** Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. 1ère Edition De Boeck Université.Paris, 383.
- **Kaushik, P., & Chauhan, A. (2008).** In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of *Spirulina platensis*. *Indian Journal of Microbiology*, 48(3), 348-352.
- **Karumi, Y., Onyeyili, P. A., & Ogugbuaja, V. O. (2004).** Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*, 4(3), 179-182.
- **Kebbab, R. (2014).** Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété *Chamlal* : Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation. . Thèse de Magister. Université de Tizi-Ouzou, 18 p.
- **Kim, D. H., et al. (2007).** Nodakenin, a coumarin compound, ameliorates scopolamine-induced memory disruption in mice. *Life sciences*, 80(21), 1944-1950.
- **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.
- **Kulandaivel, S., Prakash, R., Anitha, R., & Arunnagendran, N. (2007).** Antibacterial activity of *Spirulina platensis* and *Oscillatoria* sp. *J. Plant Appl. Microbiol*, 1(1), 127-129.
- **Lafri, I., Jemni, M., Bensehaila, S., et Boutekrabt, L. (2017).** Evaluation des methodes d'extraction de la phycocyanine et son rendemeent a partir de spirulina platensis. *Revue Agrobiologia*, 7(2), 623-634.

- **Lecointre, R. (2017).** Optimisation de la production de spiruline dans une ferme à Madagascar afin de lutter contre la malnutrition infantile, MEMOIRE INGENIEUR agroalimentaire de l'école nationale vétérinaire, agroalimentaire, et l'alimentation, Oniris, nante atlantiques, p 14,
- **Louvel, S. (2019).** La spiruline : Intérêts humanitaires et thérapeutiques, Thèse de Doctorat de Université d'Aix-Marseille, Faculté de Pharmacie, p 17, 18, 19.
- **Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, (9), 35.
- **Mala, R., Sarojini, M., Saravanababu, S., & Umadevi, G. (2009).** Screening for antimicrobial activity of crude extracts of *Spirulina platensis*. *Journal of Cell and Tissue Research*, 9(3), 1951.
- **Manigandan, M., & Kolanjinathan, K. (2017).** Antibacterial activity of various solvent extracts of *Spirulina platensis* against human pathogens. *Innovare Journal of Health Sciences*, 5(1), 10-12.
- **Manit, A. (2016).** La spiruline : Indications Thérapeutiques, Risques Sanitaires et Conseils à l'Officine, Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur en pharmacie, Diplôme d'état, Université Grenoble Alpes, Faculté de Pharmacie de Grenoble p : 8.12,14, 15, 18, 21, 22
- **Manuel terrestre de l'OIE. (2008).** Méthodes de laboratoire utilisées pour les essais d'antibiorésistance, p. 61-71.
- **Michka. (2005).** La spiruline pour l'homme et la planète, Terra Magna Georg.
- **Miranda, M. S., Cintra, R. G., Barros, S. B. M., & Mancini-Filho, J. (1998).** Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. *Brazilian Journal of Medical and biological research*, 31(8), 1075-1079.
- **Muhling, M., Somerfield, Harris, N., Belay, A. et Whitton, B. (2003).** Phenotypic analysis of *Arthrospira* (*Spirulina*) strains (cyanobacteria). *Phycologia*. Vol. 45 (1): 95-104. (2003).

- **Mundt, S., Kreitlow, S. and Jansen, R. (2003).** Fatty acids with antibacterial activity from the cyanobacterium *Oscillatoria redeki* HUB 051. *J. Appl. Phycol.* 15:263-267
- **Niangorane, U. F. (2017).** Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : Eclairage et Estimation de la Biomasse, Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse, Université Toulouse 3, Paul Sabatier, p 21, 39, 41, 44, 45.
- **Obeidat, M., et al. (2012).** Antimicrobial Activity of Crude Extracts of Some Plant Leaves. *Research Journal of Microbiology*, Vol.7 : 59-67.
- **Oucif, H. (2018).** Valorisation des algues de la côte Ouest algérienne : potentiel antioxydant et hormonal. Thèse de doctorat. Université d'Oran, 17 p.
- **Oulymata, G. (2007).** Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à gram négatif [Thèse]. Dakar : Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- **Ozdemir, G., Ulku Karabay, N., Dalay, M. C., & Pazarbasi, B. (2004).** Antibacterial activity of volatile component and various extracts of *Spirulina platensis*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(9), 754-757.
- **Palombo, E. A. (2006).** Phytochemicals from traditional medicinal plants used in the treatment of diarrhoea: modes of action and effects on intestinal function. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(9), 717-724.
- **Peronny, S. (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki *Lemur catta*. Thèse de doctorat. Muséum National d'Histoire Naturelle, 151 p.
- **Perrault, A. (2017).** A la Recherche de Nouveaux Caroténoïdes Super Antioxydants, Portail Actus, INRA, Université d'Avignon, France.
- **Pibiri, M. (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, école polytechnique fédérale de lausanne. 161p.

- **Pichersky, E., & Gershenzon, J. (2002).** The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current opinion in plant biology*, 5(3), 237-243.
- **Pierlovisi, C. (2007).** L'Homme et la Spiruline: Un avenir commun? Composition chimique, intérêts alimentaires et activités biologiques. Paris V- René Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris (162).
- **Qureshi, M.A.; Ali, R.A., and Hunter, R. (1995).** Proc 44th Western Poultry Diseases Conference, Sacramento, California, pp. 117-121.
- **Rajesh, V., & Kala, M. B. (2015).** Antiproliferative and chemopreventive effect of *Annona muricata* Linn. on Ehrlich ascites carcinoma and Benzo [a] pyrene induced lung carcinoma. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 15(4), 239-256.
- **Ramberg, CC. (2012).** Molecular characterization of Norwegian clinical isolates of *Escherichia coli* hyperproducing the chromosomal AmpC beta-lactamase : a regional spread of an IS911-mediated blaAmpC hyperexpressing ST131 clone.
- **Rao, A. R., Reddy, A. H., & Aradhya, S. M. (2010).** Antibacterial properties of *Spirulina platensis*, *Haematococcus pluvialis*, *Botryococcus braunii* micro algal extracts. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 4(3), 809-819.
- **Reham, A. E. Abd -El hay., Walaa, T. El Ekiaby., Samah, A.A.(2016).** Impacts Of *Spirulina platensis* Fish Diets On Growth Performance And Immunity Of *OREOCHROMIS Niloticus* and The Antimicrobial Activity Of *Spirulina* Extracts. *Abbassa Int. J. Aqua.*,9(1) 189-211.
- **Rogowski, J. (2008).** « *Spirulina platensis* et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques », Université Henri Poincaré - Nancy 1, 2008.
- **Samejo, M. Q., Sumbul, A., Shah, S., Memon, S. B., & Chundrigar, S. (2013).** Phytochemical screening of *Tamarix dioica* Roxb. ex Roch. *journal of pharmacy research*, 7(2), 181-183.
- **Santillan, C. (1974).** Cultivation of the *Spirulina* for human consumption and for animal feed. In *International Congress of Food Science and Technology*, Madrid (Spain).

- **Savithramma, N., Rao, M. L., & Suhrulatha, D. (2011).** Screening of medicinal plants for secondary metabolites. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 8(3), 579-584.
- **Seladji, M; Belmekki, N; Azmani, I; Bouziani, I; Bendimerad, N. (2013).** Phytochemical Screening of two Algerian medicinal plants, University of Tlemcen-Algeria.
- **Setyaningsih, I., Sari, N. I., Tarman, K., Manurung, N., & Safithri, M. (2020, January).** In vitro evaluation of face mask containing extract and biomass of *Spirulina platensis* and its antibacterial activity. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 404, No. 1, p. 012054). IOP Publishing.
- **Sguera, S. (2008).** *Spirulina Platensis* et ses Constituants, Intérêts Nutritionnels et Activités Thérapeutiques, Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy 1, Faculté de Pharmacie, p 15.
- **Shao, W., Ebaid, R., El-Sheekh, M., Abomohra, A., & Eladel, H. (2019).** Pharmaceutical applications and consequent environmental impacts of *Spirulina* (*Arthrospira*): An overview. *Grasas y Aceites*, 70(1), 292.
- **Sivakumar, J., & Santhanam, P. (2011).** Antipathogenic activity of *Spirulina* powder. *Recent Research in science and Technology*. 3(4): 158-161
- **Soni, R. A., Sudhakar, K., & Rana, R. S. (2017).** *Spirulina*–From growth to nutritional product: A review. *Trends in food science & technology*, 69, 157-171.
- **Tharwat, A. A., & Alturki, S. M. (2014).** *Spirulina platensis* production using date palm substances and low cost media in the climatic conditions of Saudi Arabia. *Advances in Environmental Biology*, 2350-2357.
- **Trabelsi, L., Ouada, H. B., & Bassa, H. (2010).** Activités biologiques des métabolites excrétés par la cyanobactérie filamenteuse *Arthrospira platensis*. *Phytothérapie*, 8(5), 282-289.
- **Tremblin, G., Moreau, B. (2017).** La Spiruline sera-t-elle l'Aliment Miracle du XXIème siècle ? Article, Le Mans Université.

- **Usharani, G., Srinivasan, G., Sivasakthi, S., & Saranraj, P. (2015).** Antimicrobial activity of *Spirulina platensis* solvent extracts against pathogenic bacteria and fungi. *Advances in Biological Research*, 9(5), 292-298.
- **Vicenete, N. (2008).** Spiruline et développement in international symposium 'spirulina and development' pages 07.
- **Vicenete, N. (2012).** La Spiruline pour la Nutrition et la Santé, p 1-4.
- **Vidalo, J. L. (2015).** Spiruline, l'algue bleue de santé et de prévention, Livre, Chapitre 3 / Cancer et Spiruline, p 101, Chapitre 16 / Universelle spiruline. A chacun son profil p. 240.
- **Vijayakumari, B., Sasikala, V., & Radha, S. R. (2013).** Preliminary phytochemical screening of the various extracts of *Rotula aquatica* Lour. *World J Pharm Pharm Sci*, 2, 6371-6380.
- **Yougbaré, I. (2007).** Impact de la Prise Quotidienne de *Spirulina platensis* sur le Statu Immunobiologique et Nutritionnel des Personnes Vivant avec le Virus de l'Immunodéficience à Burkina Faso, Mémoire pour l'Obtention d'un Diplôme d'Etudes Approfondies en Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques, Université Polytechnique de Bobo Dioulasso, Burkina Faso, p11.

# *Annexes*

**Tableau** : Les diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques sur les six souches bactériennes (Al-ghanayem, 2017).

|                        |                                   | Tétracycline<br>(30 µg)<br><br>(Tétra) | Erythromycine<br>(15 µg)<br><br>(Ery) | Chloramphénico<br>l (30 µg)<br><br>(Chlo) | Ciprofloxa<br>cine (5 µg)<br><br>(Cip) | Gentamicine<br>(10 µg)<br><br>(Gen) | Tobramycine<br>(10µg)<br><br>Tob |
|------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| Zone d'inhibition (mm) | <i>Staphylococcus<br/>Aureus</i>  | 18                                     | 14                                    | 20                                        | 15                                     | 10                                  | Nt                               |
|                        | <i>Bacillus<br/>Cereus</i>        | 21                                     | 13                                    | 21                                        | 26                                     | 13                                  | Nt                               |
|                        | <i>Bacillus<br/>Subtilus</i>      | Nt                                     | Nt                                    | Nt                                        | Nt                                     | Nt                                  | 24                               |
|                        | <i>Escherichia<br/>coli</i>       | 20                                     | 20                                    | 22                                        | 20                                     | 17                                  | Nt                               |
|                        | <i>Pseudomonas<br/>aeruginosa</i> | 19                                     | 11                                    | 27                                        | 25                                     | 14                                  | Nt                               |
|                        | <i>Klebsiella sp</i>              | 24                                     | 14                                    | 24                                        | 21                                     | 6                                   | Nt                               |
|                        |                                   |                                        |                                       |                                           |                                        |                                     |                                  |

## Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait de la spiruline sur différentes souches pathogènes dans la région de Ouargla

### Résumé

La spiruline comme de nombreuses autres espèces de cyanobactéries, a le potentiel de produire des substances antimicrobiennes. L'utilisation accrue des antibiotiques dans le traitement des maladies infectieuses a conduit à l'émergence des formes multi-résistantes des bactéries pathogènes et le déséquilibre du microbiote.

Le but de la présente étude était de déterminer l'efficacité antibactérienne de l'extrait de *Spirulina platensis* contre quelques bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques.

Les extraits acétoniques, éthanolique, et méthanolique de *S. platensis* ont été évalués pour leur activité antibactérienne contre trois bactéries Gram positives (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*), et trois bactéries Gram négatif (*Pseudomonas aureginosa*, *Klebsiella sp*, *Escherichia coli*) par la méthode de diffusion sur gélose en puits et en disques.

Tous les extraits de *S. platensis* quels que soient leurs types, ont inhibé la croissance de tous les microbes à de divers degrés. L'extrait méthanolique a montré une forte activité antibactérienne contre la plus part des souches bactériennes par rapport à les autres extraits, avec le spectre d'activité le plus important (43 mm) contre *B. subtilis*.

L'activité antibactérienne est due à la présence de composés bioactifs dans l'extrait de *S. platensis* (les tanins, les coumarines, les alcaloïdes, les terpénoides, les saponosides).

Les extraits d'algues sont des sources potentielles de métabolites secondaires bioactives qui pourraient conduire à l'élaboration de nouveaux agents pharmaceutiques pour le traitement des infections bactériennes.

**Mots clés :** *Spirulina platensis*, extrait, l'activité antibactérienne, phytochimique, antibiotiques, composés bioactifs

## Study of the antibacterial activity of the extract of spirulina on different pathogenic strains in the Ouargla region

### Abstract

Spirulina like many other species of cyanobacteria, has the potential to produce antimicrobial substances. The increased use of antibiotics in the treatment of infectious diseases has led to the emergence of multi-resistant forms of pathogenic bacteria and the imbalance of the microbiota.

The aim of the present study was to determine the antibacterial efficacy of *Spirulina platensis* extract against some pathogenic bacteria resistant to antibiotics.

The acetonic, ethanolic, and methanolic extracts of *S. platensis* were evaluated for their antibacterial activity against three Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*), and three Gram negative bacteria (*Pseudomonas aureginosa*, *Klebsiella sp*, *Escherichia coli*) by the agar diffusion method in wells and discs.

All *S. platensis* extracts regardless of their type, inhibited the growth of all microbes to varying degrees. The methanolic extract showed strong antibacterial activity against most bacterial strains compared to other extracts, with the largest spectrum of activity (43 mm) against *B. subtilis*.

The antibacterial activity was due to the presence of bioactive compounds in the extract of *S. platensis* (tannins, coumarins, alkaloids, terpenoids, saponosides).

Seaweed extracts are potential sources of bioactive secondary metabolites that could lead to the development of new pharmaceutical agents for the treatment of bacterial infections.

**Keywords:** *Spirulina platensis*, extract, antibacterial activity, phytochemical, antibiotics, bioactive compounds

## دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلص السبيرولينا على سلالات ممرضة مختلفة في منطقة ورقلة

### ملخص

تعتبر السبيرولينا، كغيرها من الأنواع الأخرى من البكتيريا الزرقاء ، لديها القدرة على إنتاج عدد من المواد المضادة للميكروبات. أدى الاستخدام المتزايد للمضادات الحيوية في علاج الأمراض المعدية إلى ظهور أشكال مقاومة من البكتيريا المسببة للأمراض واختلال التوازن لدى الجراثيم. ألهدف من خلال دراستنا هذه هو تحديد الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلص *Spirulina platensis* ضد بعض أنواع البكتيريا الممرضة المقاومة للمضادات الحيوية.

تم تقييم مستخلصات الأسيتون والإيثانول والميثانول من *S. platensis* من حيث نشاطها المضاد للبكتيريا ضد ثلاث أنواع من البكتيريا موجبة الجرام (*Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus* و *Bacillus subtilis*) وثلاث أنواع من البكتيريا سالبة الجرام (*Pseudomonas aureginosa* و *Klebsiella sp* و *Escherichia coli*) باستعمال طريقتي الانتشار على الآجار في الآبار والأقراص.

جميع مستخلصات *S. platensis* بغض النظر عن نوعها، أعاق نمو جميع الميكروبات بدرجات متفاوتة. أظهر المستخلص الميثانولي نشاطاً قوياً مضاداً للبكتيريا ضد معظم السلالات البكتيرية مقارنة بالمستخلصات الأخرى، بتسجيل أكبر فعالية (43 ملم) ضد *Bacillus subtilis*.

يعود النشاط المضاد للبكتيريا لوجود مركبات نشطة بيولوجياً في مستخلص *S. platensis* (التانينات، الكومارين، القلويدات، التربينويدات، الصابونوسيدات) تعتبر مستخلصات الطحالب من المصادر المحتملة لمواد الأيض الثانوي النشطة بيولوجياً والتي يمكن أن تؤدي إلى تطوير مواد صيدلانية جديدة لعلاج الالتهابات البكتيرية.

**الكلمات المفتاحية:** *Spirulina platensis*، مستخلص، نشاط مضاد للجراثيم، كيمويات نباتية، مضاد حيوي، المركبات النشطة بيولوجياً.