

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



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



LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE MOLECULAIRE PROTEOMICS ET SANTE

THESE Présentée par

M^{me} TEBBAL Asma

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

Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Moléculaire et Protéomique

Thème

**Etude de l'activité antagoniste de certaines Cyanobactéries
vis-à-vis des germes responsables des infections
nosocomiales**

Soutenue le :

Devant le Jury composé de :

Président :

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

Examineurs :

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

Mr. BENINE Mohamed Lamine (MCA, Université de Sidi Bel Abbès).

Directeur de thèse :

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

Co-directeur de thèse :

Mr. ARAB Karim (Professeur, Université de Boumerdès).

Année universitaire 2017/2018

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu Le Tout Puissant de m'avoir donné santé, patience, et courage pour mener à terme ce modeste travail.

En second lieu, je tiens à exprimer mes plus vifs et plus sincères remerciements à mon Directeur de thèse **M^r ABBOUNI Bouziane, professeur à l'université de Sidi Bel Abbès** et mon Co-directeur de thèse **M^r ARAB Karim, professeur à l'université de Boumerdès** pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail, tout en me laissant suffisamment d'autonomie pour gérer ces recherches ainsi que pour la confiance qu'ils m'ont accordée en acceptant de diriger cette thèse.

Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma gratitude et de mon profond respect.

Je tiens à remercier **M^r BENALI Mohammed, professeur à l'université de Sidi Bel Abbès**, pour m'avoir témoigné sa confiance en acceptant de présider le jury de ma thèse.

Je remercie également **M^r BELABID Lakhdar, professeur à l'université de Mascara**, pour s'être déplacé pour examiner ce travail.

J'adresse aussi mes vifs remerciements à **M^r BENINE Mohamed Lamine, maître de conférences à l'université de Sidi Bel Abbès**, d'avoir bien voulu participer au jury de ma thèse.

Les mots me manquent pour exprimer toute ma gratitude et ma vive reconnaissance à **M^r BENMAHDI L.**, chef de service du laboratoire central de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire d'Oran qui a bien voulu m'accueillir dans son laboratoire de microbiologie. Qu'il trouve ici l'expression de ma parfaite considération et mon profond respect pour ses qualités humaines, scientifiques et sa bonté.

Mes vifs remerciements vont aussi à **M^{me} SAOUDI A., Maître de conférences**, d'avoir fait tout l'effort pour m'intégrer au laboratoire d'Eco biologie des milieux marins et littoraux à l'université Badji Mokhtar, Annaba.

Je voudrais également remercier **M^r KERKOUD M.**, Gérant de la firme DIAG-GENE, Angers, France, qui m'a accueilli dans son laboratoire avec toute la générosité et la sympathie qui réside en sa personne.

Un profond merci pour **M^r CHAFI N.**, professeur à l'université de Sidi Bel Abbès, **M^{me} BOUANANE-DARENFED A.**, Maître de conférences à l'USTHB, et **M^{me} AMAROUCHE-YALA S.** pour tous leurs conseils, leurs encouragements et leur enthousiasme.

Je n'oublierais pas de remercier les collègues en particulier **M^{me} ARAB-BOUCHENAK O.**, **M^{me} YAHIAOUI K.**, **TIFRIT K.**, **DJAIDRI N.**, **HADDAD F.** et **LAHOUM A.**

Je remercie enfin toute personne ayant participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail

Dédicaces

Je tiens tout d'abord à remercier mes très chers parents. Je leur exprime ma profonde reconnaissance pour leur amour, leur confiance, leur soutien moral ainsi que pour leurs efforts, sacrifices et encouragements durant tout mon parcours vers un avenir meilleur.

Je remercie également mon mari qui m'a encouragé et m'a soutenu durant la période d'élaboration de cette modeste étude.

Je ne cesserai de remercier ma sœur et mon frère qui sont toujours présents à mes côtés.

Je remercie profondément ma belle-famille pour leur amour et dévouement, mes tantes, leurs époux et leurs petits, mes cousins et cousines, mes amies et tous les gens que j'aime et qui m'aiment.

Je leur dédie cette thèse...

Asma

Résumé

Les infections nosocomiales constituent un véritable problème de santé publique, du fait de taux élevé de morbidité et de mortalité qu'elles génèrent. En outre, l'utilisation excessive ou inappropriée d'antibiotiques déclenche l'émergence de souches résistantes obligeant ainsi, les chercheurs à chercher d'autres molécules capables d'inhiber la croissance de ces germes.

L'objectif principal de ce travail consiste à valoriser l'effet antagoniste des substances bioactives des cyanobactéries, isolées à partir de certains écosystèmes aquatiques algériens situés dans la région de Sidi Bel Abbès et de Tlemcen, vis-à-vis de certaines souches pathogènes responsables d'infections nosocomiales.

A cet effet, les extraits méthanoliques et aqueux des substances intracellulaires, ainsi que les extraits d'acétate d'éthyle des substances extracellulaires des isolats de cyanobactéries ont été testés *in vitro* par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé vis-à-vis de 20 souches bactériennes à Gram-positif (*Staphylococcus aureus*) et à Gram-négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*), isolées à partir de malades atteints d'infections nosocomiales hospitalisés au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire d'Oran. Les souches cliniques choisies pour évaluer l'activité antibactérienne ont montré une résistance importante aux antibiotiques conventionnels.

L'identification morphologique classique a révélé un nombre de 9 espèces différentes de cyanobactéries appartenant aux genres : *Leptolyngbya*, *Pseudanabaena*, *Geitlerinema*, *Limnothrix* et *Anabaena*. Parmi les neuf espèces, huit (88%) ont montré une activité contre au moins une souche bactérienne testée. Les extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle de ces isolats ont manifesté une forte activité inhibitrice de croissance notamment à l'égard de certaines souches à Gram positif. En revanche, les extraits aqueux n'ont pas donné généralement une importante activité.

Par ailleurs, parmi les isolats de cyanobactéries présentant un potentiel antibactérien intéressant, deux souches « D2O et D8O » ont fait l'objet d'une identification moléculaire par amplification et séquençage du gène de l'ARNr 16S. Ainsi, l'isolat D2O présente 98% de similarité avec *Leptolyngbya sp.* Alors que, l'isolat D8O peut être une nouvelle espèce car elle ne ressemble à aucune espèce de cyanobactérie connue à ce jour.

Mots clés : Cyanobactéries, écosystèmes aquatiques, activité antagoniste, infections nosocomiales, identification moléculaire.

Abstract

Nosocomial infections are a real challenge for public health because of the high rates of morbidity and mortality they generate. Also, it has been proven that the excessive or inappropriate use of antibiotics triggers the emergence of resistant strains obliging thus, researchers from all over the world to search other molecules that can inhibit the growth of these strains.

The present work has been focused on the evaluation of the antagonistic activity of bioactive substances of cyanobacteria, isolated from some Algerian aquatic ecosystems located in the area of Sidi Bel Abbes and Tlemcen, against some pathogenic strains responsible for nosocomial infections.

For this purpose, the methanol and water extracts of intracellular substances, and ethyl acetate extracts of extracellular substances of cyanobacterial species were tested *in vitro* by the method of diffusion in agar discs against 20 bacterial strains of Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*) bacteria, isolated from patients with nosocomial infections hospitalized in the Regional Military University Hospital of Oran. Clinical strains chosen to evaluate antibacterial activity showed an important resistance to conventional antibiotics.

The classic morphological method revealed a number of 9 different species of cyanobacteria, belonging to five genera: *Leptolyngbya*, *Pseudanabaena*, *Geitlerinema*, *Limnothrix* and *Anabaena*. Among nine species, eight (88%) showed an activity against at least one of the tested bacterial strain. Methanolic and ethyl acetate extracts of these isolated cyanobacteria exhibited a strong activity against tested pathogenic bacteria selectively against Gram-positive bacteria than Gram-negative bacteria. Whereas, Aqueous extracts didn't present any important activity.

Moreover, among the isolates of cyanobacteria presenting an interesting antibacterial activity, two isolates « D2O and D8O » were the subject of molecular analysis by amplification and sequencing of the 16S rRNA gene. Thus, the isolate D2O exhibited 98% sequence similarity with *Leptolyngbya* sp. While, the isolate D8O may represent new species because the results showed that these strain does not look like to any cyanobacteria species known until now.

Key words: Cyanobacteria, aquatic ecosystems, antagonistic activity, nosocomial infections, molecular identification.

ملخص

تشكل عدوى المستشفيات مشكلة صحية عمومية حقيقية، نظرا لارتفاع معدلات المرض والوفيات التي تولدها. علاوة على ذلك، الاستخدام المفرط أو الغير مناسب للمضادات الحيوية يؤدي إلى ظهور سلالات مقاومة ما يضطر الباحثين إلى التركيز في عملهم على البحث عن جزيئات أخرى قادرة على تثبيط نمو هذه الجراثيم.

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو دراسة تأثيرات المواد النشطة بيولوجيا التي تنتجها البكتيريا الزرقاء، المعزولة من بعض النظم الإيكولوجية المائية المتواجدة في الجزائر تحديدا في منطقة سيدي بلعباس وتلمسان، على بعض السلالات المسببة لعدوى المستشفيات.

تحقيقا لهذه الغاية، قد تم اختبار المستخلصات الميثانولية والمائية للجزيئات الحيوية المتواجدة داخل خلايا البكتيريا الزرقاء وكذلك مستخلصات إيثيل أسيتات للجزيئات الحيوية المتواجدة خارج خلايا هذه البكتيريا الزرقاء في المختبر، من خلال طريقة نشر الأقراص في وسط جامد ضد 20 سلالة بكتيرية موجبة الغرام (*Staphylococcus aureus*) وسالبة الغرام (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*)

(*Klebsiella pneumoniae*) معزولة من المرضى الذين يعانون من عدوى المستشفيات على مستوى المستشفى الجامعي الجهوي العسكري بوهرا. أظهرت هذه السلالات البكتيرية المختارة لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا مقاومة كبيرة للمضادات الحيوية التقليدية.

كشفت نتائج تحديد العزلات مرفولوجيا عن عزل 9 أنواع مختلفة من عزلات البكتيريا الزرقاء و المنتمية للأجناس (*Leptolyngbya*, *Pseudanabaena*, *Geitlerinema*, *Limnothrix*, *Anabaena*). من بين التسعة عزلات، ثمانية (88%) أظهرت نشاطا على الأقل على واحدة من السلالات البكتيرية التي تم اختبارها. أبدت المستخلصات الميثانولية و أسيتات الإيثيل نشاطا ضد مكروبي قوي خاصة تجاه البكتيريا موجبة الغرام. ومن ناحية أخرى، المستخلصات المائية لم تعطي نشاطا هاما.

علاوة على ذلك، من بين عزلات البكتيريا الزرقاء التي أظهرت نشاطا ضد مكروبي قوي، تم اختيار سلالتين « D2O و D8O » للتعرف عليهما بالطرق الجزيئية باستعمال آلية تحديد تتابع النيوكليوتيدات في المورثة المشفرة لل ARN الريبوزومي 16S. أظهرت العزلة D2O نسبة تشابه % 98 مع *Leptolyngbya sp.* أما بالنسبة للعزلة D8O، قد تكون نوعا جديدا لان النتائج أفضت أنها لا تشبه أي نوع من عزلات البكتيريا الزرقاء المعروفة ليومنا هذا.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الزرقاء، النظم الإيكولوجية المائية، نشاط ضد مكروبي، عدوى المستشفيات، التعرف الجزيئي.

Table des matières

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

CHAPITRE I. Synthèse bibliographique

I.1. Les cyanobactéries	3
I.1.1. Généralités	3
I.1.2 Diversité morphologique	3
I.1.2.1. Forme des cyanobactéries	3
I.1.2.2. Taille des cellules.....	4
I.1.2.3. Type des cellules.....	4
I.1.3. Position taxonomique.....	6
I.1.3.1. Suivant le code de nomenclature botanique.....	6
I.1.3.2. Suivant le code de nomenclature bactériologique.....	7
I.1.4. Structure cytologique (Ultrastructure)	10
I.1.4.1. La gaine.....	10
I.1.4.2. La paroi	10
I.1.4.3. Le chromatoplasma	11
I.1.4.4. Le centroplasma	12
I.1.4.5. Les inclusions	12
I.1.5. Description physiologique	13
I.1.5.1. Photosynthèse et fixation d'azote.....	13
I.1.5.2. Mode nutritionnel.....	14

I.1.6. Description génétique	15
I.1.7. Mode de reproduction	16
I.1.8 Habitat.....	16
I.1.9. Répartition dans le monde et en Algérie	17
I.1.9.1.Répartition dans le monde	17
I.1.9.2. Répartition en Algérie	18
I.1.10. Usages	19
I.1.10.1. Alimentaire.....	19
I.1.10.2. Agronomique.....	19
I.1.10.3. Energétique	20
I.1.10.4. Thérapeutique	20
I.2. Les métabolites des cyanobactéries	27
I.2.1. Métabolites primaires.....	24
I.2.1.1. Protéines	24
I.2.1.2. Lipides.....	24
I.2.1.3. Glucides.....	25
I.2.1.4. Vitamines	25
I.2.1.5. Pigments.....	25
I.2.2. Métabolites secondaires	26
I.2.2.1. Composés phénoliques.....	27
I.2.2.1.1. Flavonoïdes	27
I.2.2.1.2. Tanins.....	28
I.2.2.2. Alcaloïdes.....	28
I.2.2.3. Composés terpéniques.....	29
I.2.2.4. Saponines	29
I.3. Les infections nosocomiales.....	30
I.3.1. Généralités	30
I.3.2. Agents microbiens responsables	30
I.3.2.1. Les bactéries.....	30
I.3.2.2. Les virus	31
I.3.2.3. Les champignons.....	31
I.3.2.4. Les parasites	32
I.3.3. Mécanisme de transmission	32
I.3.3.1. Auto-infection	32

I.3.3.2. Hétéro-infection	32
I.3.3.3. Xéno-infection.....	32
I.3.3.4. Exo-infection	33
I.3.4. Facteurs de risque infectieux	33
I.3.4.1. Facteurs liés aux pathogènes.....	33
I.3.4.2. Facteurs liés au patient	33
I.3.4.3. Facteurs environnementaux	34
I.3.5. Principales infections nosocomiales	34
I.3.5.1. Infections urinaires.....	34
I.3.5.2. Infections post- opératoires	35
I.3.5.3. Infections respiratoires	35
I.3.5.4. Autres localisations infectieuses	35
I.3.5.5. Bactériémies nosocomiales	36
I.3.6. Taux de prévalence	36
I.3.7. Impacts.....	38
I.3.8. Résistances aux antibiotiques	38

CHAPITRE II. Matériel et méthodes

Objectif du travail.....	40
II.1. Présentation des sites de prélèvement	40
II.1.1. Bassin versant de l'oued Mekerra	40
II.1.2. Cascades d'El Ourit	42
II.2. Stratégie d'échantillonnage	43
II.3. Isolement, reconnaissance, purification et conservation des cyanobactéries	43
II.3.1. Préparation du milieu de culture.....	43
II.3.2. Techniques d'ensemencement et conditions d'incubation	44
II.3.3. Culture et repiquage (obtention de cultures unialgales)	44
II.3.4. Essai de purification de la culture unialgale	46
II.3.5. Conservation	46
II.4. Identification des isolats de cyanobactéries	46
II.4.1. Examen macroscopique	46
II.4.2. Examen microscopique	46
II.5. Estimation des pigments photosynthétiques.....	47

II.5.1. Dosage de la chlorophylle <i>a</i>	47
II.5.2. Dosage des phycobiliprotéines	47
II.6. Screening phytochimique	48
II.6.1. Test des tannins	48
II.6.2. Test des flavonoïdes	49
II.6.3. Test des alcaloïdes	49
II.6.4. Test des terpénoides	49
II.6.5. Test des stéroïdes	49
II.6.6. Test des saponosides	49
II.7. Diagnostic bactériologique des infections nosocomiales	49
II.7.1. Isolement des souches bactériennes.....	50
II.7.2. Identification des souches isolées	51
II.7.2.1. Identification morphologique	51
II.7.2.1.1. Aspect macroscopique	51
II.7.2.1.2. Aspect microscopique.....	51
II.7.2.2. Identification biochimique.....	51
II.7.2.2.1. Recherche de la catalase	51
II.7.2.2.2. Recherche de l'oxydase	51
II.7.2.2.3. Identification par galeries biochimiques	52
II.7.2.3. Tests spécifiques	52
II.7.2.3.1. Recherche de la coagulase.....	52
II.7.2.3.2. Test d'agglutination pour l'identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	53
II.7.3. Etude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques	53
II.7.3.1. Test de synergie	54
II.7.3.2. Détection de la résistance des <i>S. aureus</i> à la méticilline	54
II.7.4. Confirmation des résultats par MicroScan WalkAway	55
II.8. Etude des propriétés antagonistes des isolats de cyanobactéries.....	56
II.8.1. Préparation des précultures.....	56
II.8.2. Culture en batch	56
II.8.3. Extraction des métabolites bioactifs	57
II.8.3.1 Extraction à partir de la biomasse (métabolites intracellulaires).....	58
II.8.3.2 Extraction à partir du surnageant (métabolites extracellulaires)	58
II.8.3.3. Dosage des polyphénols totaux	58

II.8.4. Pouvoir antibactérien des extraits	58
II.8.4.1. Revivification des souches bactériennes	59
II.8.4.2. Préparation de l'inoculum	59
II.8.4.3. Préparation des disques	59
II.9. Identification moléculaire	60
II.9.1. Extraction de l'ADN génomique	60
II.9.2. Amplification du gène de 16S rRNA	52
II.9.2.1. Préparation du Master mix PCR	62
II.9.2.2. Programmation du thermocycleur	62
II.9.3. Electrophorèse et purification des produits de la PCR	62
II.9.4. Séquençage des gènes amplifiés (16S rRNA)	63
II.9.5. Assemblage et correction des séquences brutes	64
II.9.6. Soumission des séquences génétiques à la base de données Genbank	64
II.10. Etude statistique	64

CHAPITRE III. Résultats et discussions

III.1. Paramètres physiques des écosystèmes aquatiques prospectés	65
III.2. Isolement des cyanobactéries	65
III.3. Identification des isolats de cyanobactéries	67
III.3.1. Caractéristiques macromorphologiques des isolats	67
III.3.2. Caractéristiques micromorphologiques des isolats	70
III.4. Estimation des pigments photosynthétiques	74
III.5. Screening phytochimique	75
III.6. Diagnostic bactériologique des infections nosocomiales	77
III.6.1. Identification des souches bactériennes isolées	77
III.6.1.1. Identification morphologique et biochimique	77
III.6.1.2. Identification par les galeries biochimiques	78
III.6.1.3. Tests spécifiques pour l'identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	80
III.6.1.3.1. Test de coagulase	80
III.6.1.3.2. Test d'agglutination (Test Staphaurex)	80
III.6.2. Fréquence des bactéries isolées	81
III.6.3. Etude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques	82
III.6.3.1. Fréquence des bactéries multi-résistantes (BMR)	84

III.6.4. Confirmation des résultats par MicroScanWalkAway	85
III.7. Etude des propriétés antagonistes des isolats de cyanobactéries	85
III.7.1. Poids secs et rendements des extractions	85
III.7.2. Teneur des extraits en polyphénols	87
III.7.3. Pouvoir antibactérien des extraits.....	89
III.7.3.1. Activité antibactérienne des extraits sur <i>E. coli</i>	89
III.7.3.2. Activité antibactérienne des extraits sur <i>K. pneumoniae</i>	90
III.7.3.3. Activité antibactérienne des extraits sur <i>P. aeruginosa</i>	91
III.7.3.4. Activité antibactérienne des extraits sur <i>A. baumannii</i>	92
III.7.3.5. Activité antibactérienne des extraits sur <i>S. aureus</i>	93
III.8. Identification moléculaire	98
III.8.1. Amplification du gène de 16S rRNA	98
III.8.2. Séquençage, correction et assemblage des gènes amplifiés	98
Conclusion	101
Références bibliographiques	103

Liste des abréviations

% GC	Pourcentage en guanine-cytosine
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARN	Acide Ribonucléique
ARNr	Acide Ribonucléique ribosomique
ATP	Adénosine Triphosphate
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
APC	Allophycocyanine
PC	Phycocyanine
PE	Phycoérythrine
PEC	Phycoérythrocyanine
CO₂	Dioxyde de carbone
N₂	Azote moléculaire
H₂O	Formule brute de l'eau
H₂S	Sulfure d'hydrogène
pH	Potentiel d'Hydrogène
Kb	kilobase
pb	Paire de bases
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
SIDA	Syndrome d'Immunodéficience Acquise
HDDP	Hexahydroxy diphénique
C.H.U	Centre Hospitalier Universitaire
BGN	Bacilles à Gram négatif
BMR	Bactéries Multi-Résistantes
AMP	Ampicilline
P	Pénicilline
AMC	Amoxicilline/ Acide Clavulanique
TIC	Ticarcilline
PIP	Pipéracilline
CZO	Céfazoline
CTX	Céfotaxime
CAZ	Ceftazidime
IPM	Imipénème
AMK	Amikacine
GEN	Gentamycine
CIP	Ciprofloxacine
SXT	Triméthoprim/Sulfaméthoxazole
TCC	Ticarcilline/ Acide Clavulanique
ATM	Aztréonam
TOB	Tobramycine
COL	Colistine
FOS	Fosfomycine
OXA	Oxacilline
FOX	Céfoxitine
RIF	Rifampicine
VAN	Vancomycine
TCY	Tétracycline
ATCC	American type culture collection

SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méticilline
ERV	Enterococci résistants à la vancomycine
SPNP	<i>Streptococcus pneumoniae</i> non-sensibles à la pénicilline
BLSE	β -lactamase à spectre étendu
PDP	Prélèvement Distal Protégé
API	Appareillage et Procédé d'Identification
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CFU	Colony-Forming Unit
A	Absorbance
NCBI	National Center for Biotechnology Information
EMBL	European Molecular Biology Laboratory
PCR	Polymerase Chain Reaction
mg EAG/g MS	Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière algale sèche
ANOVA	Analyse de la Variance
qsp	Quantité suffisante pour
BET	Bromure d'éthidium
FeCl₃	Chlorure ferrique
Hcl	Acide Chlorhydrique
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
DMSO	Diméthylsulfoxyde
H₃PW₁₂O₄₀	Acide phosphotungstique
H₃PMo₁₂O₄₀	Acide phosphomolybdique
MgCl₂	Chlorure de magnésium
NaNO₃	Nitrate de sodium
K₂HPO₄	Hydrogénophosphate de potassium
MgSO₄	Sulfate de magnésium
CaCl₂	Chlorure de calcium
EDTA	Éthylène Diamine Tétra-Acétique
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
H₃BO₃	Acide borique
MnCl₂	Chlorure de manganèse
ZnSO₄	Sulfate de zinc
Na₂MoO₄	Molybdate de sodium
CuSO₄	Sulfate de cuivre
Co(NO₃)₂	Nitrate de cobalt (II)
KH₂PO₄	Dihydrogénophosphate de potassium
K₂HPO₄	Hydrogénophosphate de potassium

Liste des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques des sous-sections de cyanobactéries	8
Tableau 2. Molécules actives extraites des cyanobactéries	22
Tableau 3. Résumé des pathogènes les plus fréquemment isolés dans les infections nosocomiales, selon le type d'infection et la région	37
Tableau 4. Origines des prélèvements	50
Tableau 5. Paramètres physiques des eaux de l'oued Mekerra et cascades d'El Ourit.....	65
Tableau 6. Espèces de cyanobactéries isolées et identifiées	70
Tableau 7. Teneur en pigments photosynthétiques des isolats de cyanobactéries.....	74
Tableau 8. Métabolites secondaires mis en évidence au niveau des isolats de cyanobactéries	76
Tableau 9. Résultats de l'étude macroscopique, microscopique et biochimique des bactéries isolées	77
Tableau 10. Résultats des tests spécifiques (test de coagulase et Staphaurex)	80
Tableau 11. Résistance et sensibilité des souches bactériennes isolées de patients atteints d'infections nosocomiales aux antibiotiques.....	82
Tableau 12. Poids secs et les rendements des extraits des isolats de cyanobactéries	86
Tableau 13. Contenus en polyphénols totaux des extraits des isolats de cyanobactéries	88
Tableau 14. Diamètre d'inhibition (mm) des extraits vis-à-vis des souches d' <i>E. coli</i> testées.	90
Tableau 15. Diamètre d'inhibition (mm) des extraits vis-à-vis des souches de <i>K. pneumoniae</i> testées	91
Tableau 16. Diamètre d'inhibition (mm) des extraits vis-à-vis des souches d' <i>A. baumannii</i> testées	92
Tableau 17. Diamètre d'inhibition (mm) des extraits vis-à-vis des souches de <i>S. aureus</i> testées	93
Tableau 18. Présentation des numéros d'accession, le pourcentage de similarité et l'identité de deux souches de cyanobactéries présentant un potentiel antibactérien intéressant.....	99

Liste des figures

Figure 1. Diversité morphologique des cyanobactéries	5
Figure 2. Arbre phylogénétique des sous-groupes de cyanobactéries.....	9
Figure 3. Microphotographies électroniques à transmission de l'enveloppe des cyanobactéries	11
Figure 4. Microphotographies électroniques à transmission de l'ultrastructure de <i>Synechocystis sp.</i>	12
Figure 5. Microphotographie à transmission d'un hétérocyste terminal et de la cellule végétative adjacente d'un filament d' <i>Anabaena sp.</i> PCC 7120	14
Figure 6. Répartition des cyanobactéries dans le monde	18
Figure 7. Structure de la chlorophylle <i>a</i>	26
Figure 8. Structure générale de flavonoïde	27
Figure 9. Situation géographique de l'oued Mekkera	41
Figure 10. Présentation du site de prélèvement « l'oued Mekerra ».....	41
Figure 11. Situation géographique des cascades d'El Ourit	42
Figure 12. Présentation du site de prélèvement « cascades d'El Ourit »	42
Figure 13. Protocole expérimental de l'isolement des cyanobactéries à partir de l'échantillon d'eau.....	45
Figure 14. Test d'identification des souches bactériennes nosocomiales	56
Figure 15. Schéma explicatif des étapes de préparation de la poudre des isolats de cyanobactéries.	57
Figure 16. Schéma récapitulatif des étapes de l'extraction de l'ADN total à partir des cyanobactéries à l'aide du kit DNeasy Mini Plant de Qiagen (France)	61
Figure 17. Schéma récapitulatif des étapes de séquençage selon la méthode de Sanger	64
Figure 18. Isolement des cyanobactéries à partir de l'échantillon d'eau de « l'oued Mekkera » par méthode des suspensions-dilutions, inoculées sur le milieu de culture BG11	

et incubées à $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sous une lampe de flux lumineux compris entre 3-4 Klux en fonction d'une photopériode de 16/8 heures	66
Figure 19. Macromorphologie des souches de cyanobactéries isolées à partir des échantillons de « l'oued Mekkera », inoculées sur le milieu de culture BG11 et incubées à $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sous une lampe de flux lumineux compris entre 3-4 Klux en fonction d'une photopériode de 16/8 heures	68
Figure 20. Macromorphologie des souches de cyanobactéries isolées à partir des échantillons des « cascades d'El Ourit », inoculées sur le milieu de culture BG11 et incubées à $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sous une lampe de flux lumineux compris entre 3-4 Klux en fonction d'une photopériode de 16/8 heures	69
Figure 21. Micromorphologie (au microscope optique) des souches de cyanobactéries isolées à partir de « l'oued Mekkera »	72
Figure 22. Micromorphologie (au microscope optique) des souches de cyanobactéries isolées à partir des « cascades d'El Ourit »	73
Figure 23. Galerie API 20 NE pour l'identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	78
Figure 24. Galeries biochimiques Api 20 E.	79
Figure 25. Test Staphaurex.....	80
Figure 26. Fréquence des bactéries isolées de patients atteints d'infections nosocomiales....	81
Figure 27. Fréquence des BMR isolées de patients atteints d'infections nosocomiales	84
Figure 28. Test de synergie positif pour une souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de BLSE	85
Figure 29. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	87
Figure 30. Test d'activité des extraits de cyanobactéries vis-à-vis des souches de <i>S. aureus</i> par la technique de diffusion des disques sur gélose.....	94
Figure 31. Sensibilité des bactéries testées	96
Figure 32. Pourcentage des réactions positives des isolats de cyanobactéries.....	97
Figure 33. Electrophorèse sur gel d'agarose des fragments d'ADN amplifiés, codant le gène de 16S rRNA des souches D2O et D8O avec deux répétitions pour chaque	98

INTRODUCTION

Les infections nosocomiales ou infections hospitalières sont devenues aujourd'hui un sujet d'actualité, et elles constituent un sérieux problème de santé publique. Ces infections représentent un frein important au développement médical du fait de leur fréquence sans cesse croissante. Elles génèrent un surcoût économique majeur à l'hospitalisation et elles contribuent de manière importante à la morbidité et à la mortalité chez des patients hospitalisés (**Kasongo Kakupa *et al.*, 2016**).

Cette situation semble se compliquer par l'émergence et la progression du phénomène de résistance aux antibiotiques qui place les cliniciens dans une impasse, face à des germes réfractaires à tous types de traitement limitant à la fois les schémas thérapeutiques aggravant le pronostic des malades et prolongeant leur durée de séjour (**Rebiahi, 2011**).

L'usage fréquent et abusif des antibiotiques contre les maladies infectieuses d'origine fongique ou bactérienne est l'un des facteurs essentiels dans le développement et l'évolution de la résistance microbienne (**Maccrain et Heimsheidt, 2000 ; Leif et Larson, 2005**).

Devant cette situation alarmante, l'utilisation appropriée des antibiotiques restent absolument nécessaire pour prolonger la durée de validité clinique de ces molécules. Cependant, la solution à long terme pour contrer les résistances microbiennes est de découvrir de nouvelles molécules antimicrobiennes d'origine biologiques (**Madigan et Martinko, 2007 ; Saisivam *et al.*, 2008**). Celles-ci sont souvent recherchées à partir des micro-organismes isolés de différents écosystèmes (**Boussaber *et al.*, 2012**).

De nombreux travaux se sont intéressés, durant cette dernière décennie, aux substances actives produites par les cyanobactéries comme une source potentielle de nouveaux produits d'intérêts pharmaceutique et médical (**Boyd *et al.*, 1997 ; Loya *et al.*, 1998., Kim, 2006 ; Ramadan *et al.*, 2008 ; Chlipala *et al.*, 2009 ; Kumar *et al.*, 2013 ; Abd El-Aty *et al.*, 2014 ; Swain *et al.*, 2015**). En effet, ces bactéries photosynthétiques sont capables de produire une multitude de substances antimicrobiennes. Certaines d'entre elles possèdent des effets algicides (**Miyochi *et al.*, 1994 ; Ikawa *et al.*, 1996**), d'autres substances ont une activité antifongique (**Hagmann et Juttner, 1996 ; Patterson et Bolis, 1997**), antibactériennes (**Cano *et al.*, 1986 ; Oufdou *et al.*, 1998**) et même antivirales (**Boyd *et al.*, 1997 ; Loya *et al.*, 1998**).

Les cyanobactéries sont des micro-organismes dont les diverses espèces colonisent, depuis 3,5 milliards d'années, le monde vivant à l'échelle du globe. Ces espèces présentent un pouvoir important d'adaptation aux changements environnants et un taux de croissance rapide. Ainsi, elles ont la possibilité de développer une grande masse cellulaire (**Castenholz et Waterbury, 1989**).

En revanche, peu d'études ont été réalisées sur la production de substances bioactives élaborées par des cyanobactéries isolées des écosystèmes algériens. Les premiers et les seuls travaux effectués sont ceux de **Yahiaoui *et al.* (2015)** et **Mezouari *et al.* (2016)**.

Les travaux de recherche de cette thèse s'inscrivent dans cette volonté de mettre en évidence de nouvelles molécules bioactives. L'objectif principal est de valoriser les souches de cyanobactéries, isolées des écosystèmes aquatiques algériens, susceptibles de produire de nouvelles substances inhibitrices de la croissance de certaines bactéries responsables d'infections nosocomiales. Le manuscrit est organisé en trois parties principales :

- ❖ Dans une première partie, une étude bibliographique décrit la grande diversité de ce groupe de cyanobactéries, suivie d'un aperçu sur les infections nosocomiales.
- ❖ La deuxième partie décrit l'ensemble des méthodes mises en œuvre au cours de ces travaux de thèse comprenant principalement les techniques microbiologiques et les techniques de biologie moléculaire.
- ❖ Une troisième partie expose les résultats obtenus et leur discussion.
- ❖ Enfin, le manuscrit s'achève par une conclusion regroupant les principaux résultats ainsi que les perspectives d'avenir.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Les cyanobactéries

I.1.1. Généralités

Les cyanobactéries (Cyano, du grec kianeos « bleu sombre ») ou anciennement appelées les algues bleu-vert, cyanophytes ou cyanophycées constituent un groupe très hétérogène de microorganismes procaryotes photosynthétiques (**Cammack *et al.*, 2008**). Ces microorganismes ont longtemps été classés dans le règne végétal car ils présentent, outre des propriétés spécifiques des bactéries, des caractéristiques propres aux algues (**Fay et Van Baalen, 1987 ; Van Den Hoek *et al.*, 1995**):

- La structure cellulaire est similaire à celle des bactéries, caractérisée en particulier par l'absence de membranes nucléaire et plastidiale, de mitochondries, de réticulum endoplasmique et de dyciosome, et la présence d'une paroi cellulaire caractéristique des bactéries Gram négatives, révélée avec de la muréine.
- Comme les algues, les cyanobactéries possèdent deux photosystèmes (PSI et PSII), utilisent l'eau comme donneur d'électrons et renferment la chlorophylle *a*, ainsi que d'autres pigments photosynthétiques telles que les phycobiliprotéines, rencontrées chez les *Rhodophyceae*, les *Dinophyceae* et les *Cryptophyceae*.

I.1.2. Diversité morphologique

I.1.2.1. Forme des cyanobactéries

La diversité morphologique des cyanobactéries est impressionnante. Il existe à la fois des formes unicellulaires et filamenteuses.

La structure unicellulaire correspond :

- Soit à une cellule unique dite solitaire ou libre, en bâtonnet (exemple : *Synechococcus*) ou sphérique (exemple : *Synechocystis*), nue ou entourée d'une gaine mucilagineuse homogène ou stratifiée (**Figure 1-A**).
- Soit à plusieurs cellules agrégées au nombre généralement variable, dites coloniales, enrobées dans un mucilage commun (exemple : *Chroococcus*). La forme des colonies est très diversifiée, allant de la structure monostromatique où la colonie est plane avec une seule couche de cellules à la structure amorphe où de nombreuses cellules sont enrobées dans un mucilage commun sans contour défini. Leurs groupements peuvent être cubiques, irréguliers ou sphériques (**Figure 1-B**).

La structure filamenteuse est organisée en filaments simples ou ramifiés unisériés (une seule série de cellules jointives) ou plurisériés (plusieurs séries de cellules jointives). La ramification peut être soit une vraie ramification issue d'une cellule née à partir d'un cloisonnement parallèle à l'axe principal et développant un rameau latéral, soit une fausse ramification où la cellule régénératrice se sépare du filament axial et se cloisonne transversalement. Ils peuvent être sans gaine (trichome) ou avec gaine mucilagineuse (filament) homogène ou stratifiée (Couté et Bernard, 2001 ; Silvano, 2005).

I.1.2.2. Taille des cellules

La taille des cellules de cyanobactéries varie entre la taille typique pour les bactéries (0.5 à 1µm de diamètres) jusqu'à 40µm de diamètre (chez l'espèce *Oscillatoria princeps*) (Madigan et Martinko, 2007).

I.1.2.3. Type des cellules

Trois types de cellules peuvent être rencontrés chez les cyanobactéries, à savoir :

a) Les cellules végétatives

Constituant l'essentiel de la cyanobactérie, elles sont toutes identiques les unes aux autres à quelques exceptions près. Le contenu de ces cellules est de couleurs très diverses, conséquence des teneurs en pigments photosynthétiques.

Certains filaments montrent une zone intermédiaire à contenu évanescent, faite de cellules mortes ou nécruidies. Le rôle de ces dernières est de permettre le fractionnement du filament en plusieurs segments donnant naissance aux hormogonies qui sont de courts trichomes mobiles constitués de quelques cellules et joueront un rôle dans la dispersion de la population (Figure 1-C) (Couté et Bernard, 2001 ; Leitão et Couté, 2005).

b) Les hétérocystes

Ils résultent d'une véritable différenciation cellulaire contrôlée par plusieurs centaines de gènes. Ces cellules caractérisent certains groupes de cyanobactéries. Elles sont reconnaissables à leur paroi épaisse, leur faible pigmentation et la présence de granulations polaires visibles à la jonction des cellules végétatives adjacentes. Elles sont hautement spécialisées dans la fixation de l'azote atmosphérique (Leclerc *et al.*, 1995).

La forme des hétérocystes est sphérique, cylindrique, voir conique. Leur position dans le trichome est soit intercalaire, soit terminale à l'une des extrémités seulement ou aux deux, ou encore latérale. Ils sont généralement solitaires mais peuvent également se présenter en série (Figure 1-D) (Couté et Bernard, 2001 ; Leitão et Couté, 2005).

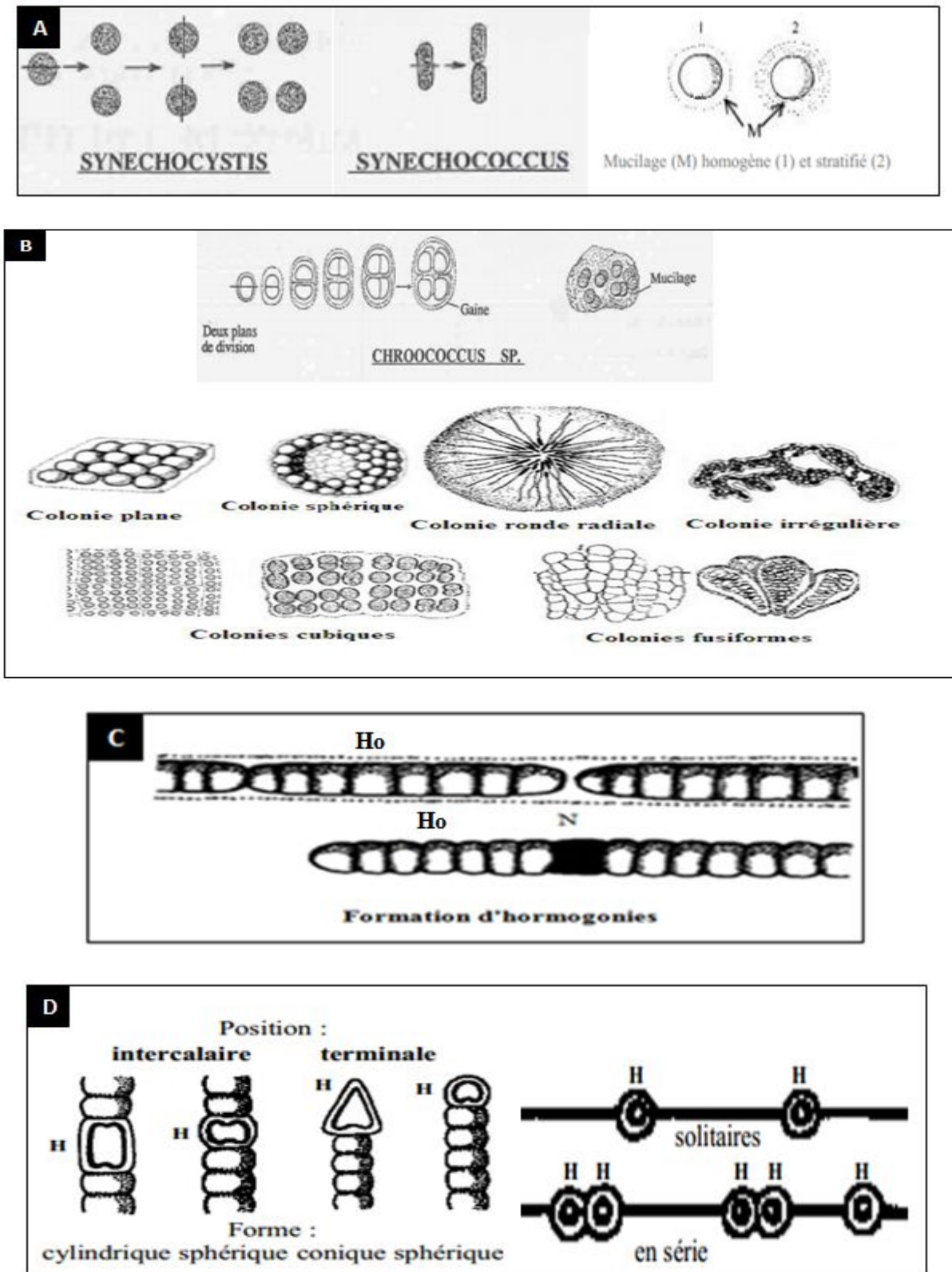


Figure 1. Diversité morphologique des cyanobactéries (Leitão et Couté, 2005).

A) les différentes formes des cyanobactéries unicellulaires et la forme du mucilage ; B) les formes diversifiées des groupements de cellules ; C) formation d'hormogonies ; D) la forme et la localisation des hétérocystes dans le filament (M : mucilage ; Ho : hormogonie ; N : nécrécie ; H : hétérocyste).

c) Les akinètes

Ces spores, ou cellules de résistance, permettent à l'espèce de survivre au cours des périodes climatiques difficiles ou de catastrophes écologiques. Elles prennent naissance par différenciation des cellules végétatives. Elles sont reconnaissables à leur grande taille, leur pigmentation intense et surtout leur paroi épaisse. Lorsque les conditions extérieures redeviennent favorables, ces cellules, qui se sont détachées de l'organisme en cours de dégradation, germent et donnent un nouvel individu. Les akinètes ne peuvent être observées que dans les formes filamenteuses (*Nostoc*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*...) et seulement lorsque les circonstances favorisent leur formation (Leclerc *et al.*, 1995 ; Leitão et Couté, 2005).

I.1.3. Position taxonomique

Les cyanobactéries sont reconnues à la fois par le Code International de Nomenclature Botanique (Greuter *et al.*, 2000) et par le Code International de Nomenclature Bactériologique (Lapage *et al.*, 1992).

I.1.3.1. Critères de classification selon le code de nomenclature botanique

La classification suivant le code de nomenclature botanique repose sur des critères morphologiques (la taille des cellules, la présence ou l'absence de gaine...), qui permettent une identification relativement aisée des genres les plus fréquemment rencontrés. En revanche, la détermination de l'espèce, délicate et entachée d'incertitude, reste l'apanage de spécialistes (Afssa/Afsset, 2006).

D'après Couté et Bernard (2001), la classification des cyanophytes a été modifiée plusieurs fois, et la taxonomie adoptée les regroupe dans une classe unique, celle des Cyanophycées, elle-même subdivisée en quatre ordres.

- Le premier ordre celui des *Chroococcales* et des *Pleurocapsales*, regroupe les individus unicellulaires tel que *Synechococcus* ou coloniaux comme *Aphanocapsa*, *Chroococcus*, *Microcystis* et *Coelosphaerium*, qui ne forment pas de vrais filaments, donc sans interrelations cellulaires réelles.
- Les *Oscillatoriales* constituent le second ordre. Sous cette appellation, sont réunis les genres filamenteux unisériés, sans ramifications (vraies ou fausses), sans hétérocystes ni akinètes tel que *Borzia*, *Limnothrix*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*, *Pseudanabaena* et *Spirulina*.
- Le troisième ordre regroupe, les *Nostocales*, les formes filamenteuses avec hétérocystes, akinètes et hormogonies comme *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Aphanizomenon*,

Cylindrospermopsis et *Nodularia* montrant souvent de fausses ramifications. Les trichomes sont solitaires ou regroupés dans un mucilage comme *Nostoc*.

- Les ***Stigonématales*** forment le quatrième ordre. Les thalles sont filamenteux, à différenciation cellulaire en hétérocystes et akinètes, présentant de vraies ramifications comme *Geitleria*, *Stigonema*, *Nostochopsis*, *Fischerella* et *Hapalosiphon*.

I.1.3.2. Critères de classification selon le code de nomenclature bactériologique

Les cyanobactéries forment une classe à part au sein de l'embranchement des eubactéries. Elles font partie du groupe des procaryotes photosynthétiques, mais se distinguent des bactéries vertes et pourpres (photosynthèse anoxygénique) par leur photosynthèse de type oxygénique (Castenholz, 2001; Prescott *et al.*, 2003).

La validité des espèces est basée sur des études comparatives de souches pures en culture (Stanier *et al.*, 1978 ; Rippka *et al.*, 1979 ; Rippka, 1988). Cette classification est tiens compte de la morphologie et des caractéristiques physiologiques, biochimiques et génétiques (pourcentage en guanine-cytosine (% GC), hybridations ADN/ADN ou ADN/ARN). Elles a ainsi permis de réduire le nombre de taxons de 150 genres à 56 genres représentés dans le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Castenholz, 2001), dans lequel les cyanobactéries constituent un phylum d'une seule classe divisée en 5 sous-groupes définis sur les caractères distinctifs représentés dans le **tableau 1** (Castenholz, 2001).

Les ordres de la classification botanique correspondent aux sections définies dans la classification bactériologique. Les divergences entre les deux classifications sont retrouvées essentiellement au niveau de l'espèce, et peuvent s'expliquer par le nombre de souches en culture relativement faible en comparaison avec la diversité répertoriée dans l'environnement. Il est à noter que ce manque de souches est lié à la difficulté d'isolement et de culture des cyanobactéries (Rippka *et al.*, 1979 ; Rippka, 1988).

Tableau 1. Caractéristiques des sous-sections de cyanobactéries (Castenholz, 2001).

Sous-section	Forme générale	Reproduction et croissance	Hétéro-cystes	% GC	Autres propriétés	Genres représentatifs
I	Bâtonnets ou coques unicellulaires ; agrégats non filamenteux	Scissiparité ; bourgeonnement	-	31-71	Non mobiles ou nagent sans flagelle	<i>Chroococcus</i> <i>Gloeotheca</i> <i>Gleocapsa</i> <i>Prochlorococcus</i> <i>Prochloron</i>
II	Bâtonnets ou coques unicellulaires ; peuvent être maintenus en agrégats	Scission multiple pour former des baeocytes	-	40-46	Seules quelques baeocytes sont mobiles	<i>Pleurocapsa</i> <i>Dermocarpella</i> <i>Chroococidiopsis</i>
III	Filaments, trichomes non ramifiés, avec seulement des cellules végétatives	Scissiparité dans un seul plan, fragmentation	-	34-67	Généralement mobiles	<i>Lyngbia</i> <i>Oscillatoria</i> <i>Prochlorothrix</i> <i>Spirulina</i> <i>Pseudanabaena</i>
IV	Filaments, trichomes non ramifiés, peuvent contenir des cellules spécialisées	Scissiparité dans un seul plan, fragmentation pour former des hormogonies	+	38-47	Souvent mobiles, Peuvent produire des akinètes	<i>Anabaena</i> <i>Cylindrospermum</i> <i>Aphanizomenon</i> <i>Nostoc</i> <i>Scytonema</i> <i>Calothrix</i>
V	Trichomes filamenteux, soit ramifiés, soit composés de plus d'une rangée de cellules	Scissiparité dans plus d'un plan, formation d'hormogonies	+	42-44	Peuvent produire des akinètes, complexité morphologique	<i>Fischerella</i> <i>Stigonema</i> <i>Geitleria</i>

Une voie d'approche récente de la systématique faisant appel à la biologie moléculaire est de plus en plus appliquée aux cyanobactéries. Ainsi l'étude du gène codant l'ARN ribosomique 16S et la comparaison de ses séquences a permis l'établissement d'arbres phylogénétiques permettant de préciser les relations entre les divers groupes de cyanobactéries (**Figure 2**) (Schirrmeyer *et al.*, 2011).

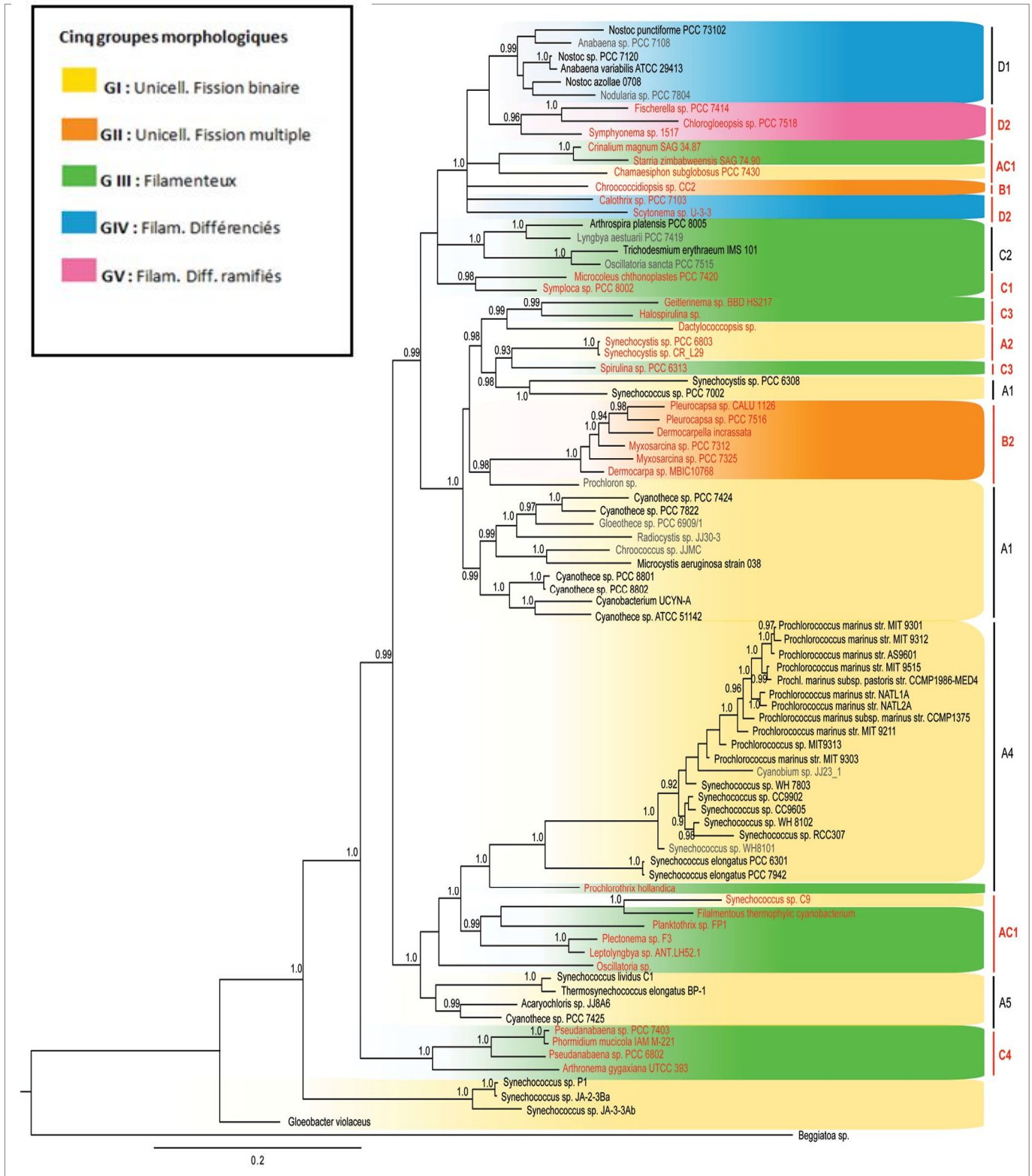


Figure 2. Arbre phylogénétique des sous-groupes de cyanobactéries (Schirrmeyer *et al.*, 2011).

Les espèces entièrement séquencées sont notées en noir ; les espèces non entièrement séquencées sont notées en rouge.

I.1.4. Structure cytologique (Ultrastructure)

Les cellules de cyanobactéries montrent une coloration homogène en raison de l'absence de plaste individualisé. Un examen microscopique plus précis permet cependant de distinguer une zone périphérique colorée ou chromatoplasma tandis que la partie centrale, centroplasma (ou corps central ou nucléoplasme) semble incolore (**Bourrelly, 1985**). La cellule de cyanobactéries est constituée par :

I.1.4.1. La gaine

La gaine, située à l'extérieur de la paroi, est gélatineuse. Elle est plus au moins épaisse, homogène ou structurée, souvent lamelleuse. Elle assure la protection des cellules de la dessiccation, et favorise aussi la mobilité des trichomes par glissement à l'intérieur de la gaine (**Bourrelly, 1985 ; Silvano, 2005**).

I.1.4.2. La paroi

La paroi constitue une protection mécanique et sa rigidité donne le contour à la cellule. Elle comprend quatre assises : (i) la membrane cytoplasmique, (ii) la couche épaisse de peptidoglycane, (iii) la membrane externe et (iv) une couche externe dentelée appelée Couche-S (**Figure 3**). Cette dernière peut être secondée par une couche ciliée composée de fibrilles glyco-protéiques dites Oscillines chez les espèces mobiles par glissement (**Hoiczyk, 2000**).

La couche de peptidoglycane, épaisse et réticulée, est liée de manière covalente aux polysaccharides. Cette couche est de 1 à 10 nm d'épaisseur chez les espèces unicellulaires (*Synechococcus*), de 15 à 35 nm chez les espèces filamenteuses (*Phormidium uncinatum*) et atteint 700 nm chez *Oscillatoria princeps* (**Hoiczyk et Baumeister, 1995**).

La présence de pores ou de perforations dans la couche peptidoglycanique de la paroi facilite les échanges entre les cellules du filament et le milieu extérieur. Les fimbriae ou pili traversent les parois des cyanobactéries. Les fimbriae sont probablement impliqués dans les interactions procaryotes-eucaryotes telles les symbioses (**Silvano, 2005**).

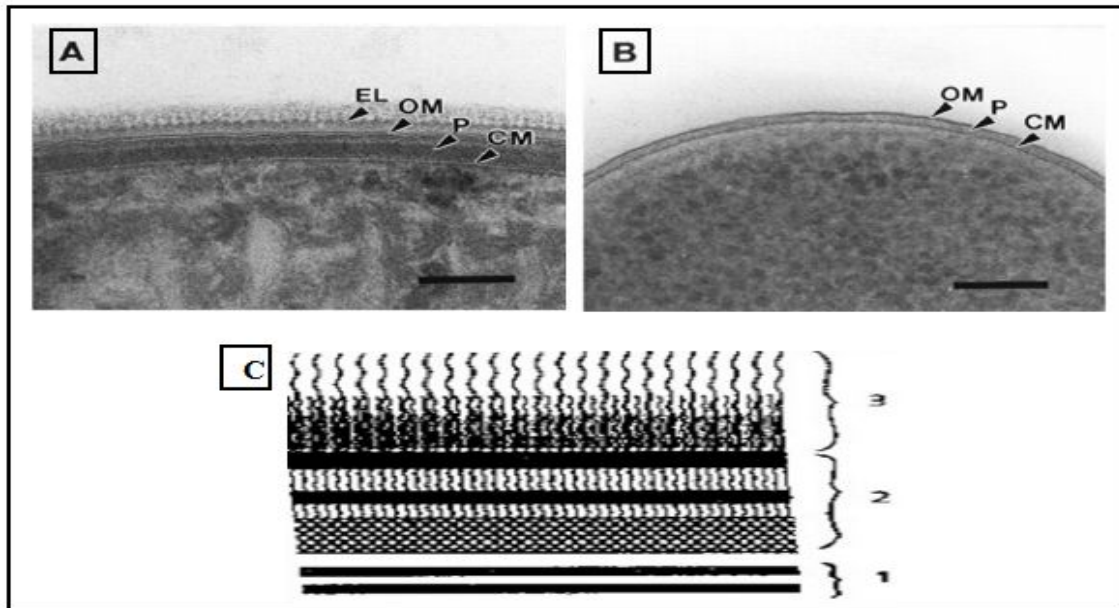


Figure 3. Microphotographies électroniques à transmission de l'enveloppe des cyanobactéries (Hoiczyk et Hansel, 2000).

(A) enveloppe cellulaire Gram négatif de *Phormidium uncinatum* composée de trois membranes et d'une couche dentelée (B) enveloppe cellulaire d'*Escherichia coli* (C) détail de l'enveloppe en (A): (1) Membrane Cytoplasmique (CM), (2) couche épaisse du Peptidoglycane (P), (3) Membrane Externe (OM), couche externe dentelée (EL).

I.1.4.3. Le chromatoplasma

Il constitue l'appareil photosynthétique, localisé au niveau des thylakoïdes. Ces derniers sont un empilement de membranes internes (sorte de sac écrasé dont les deux parois sont très rapprochées) disposées parallèlement à l'enveloppe cellulaire. Ils comportent trois sortes de complexe macromoléculaires : les photosystèmes membranaires (PSI et PSII), et les phycobilisomes (Pelmont, 1995). La chlorophylle *a* et les caroténoïdes sont des pigments localisés à l'intérieur des membranes thylacoïdales, tandis que les phycobiliprotéines font partie des phycobilisomes, sorte de granules portés à la surface des thylakoïdes (Figure 4). Les phycobilisomes sont composés principalement d'allophycocyanine (APC), de phycocyanine (PC) et éventuellement de phycoérythrine (PE) ou de phycoérythrocyanine (PEC). Bien que la plupart des cyanobactéries apparaissent bleu-vert à cause de la phycocyanine, certaines sont rouges ou brunes à cause de la phycoérythrine (Sidler, 1994 ; Prescott *et al.*, 2010).

Le seul genre cyanobactérien qui ne contient pas de thylakoïdes est celui de *Gloeobacter* dont les phycobilisomes sont localisés sur le côté intérieur de la membrane plasmique (**Rippka et al., 1974**).

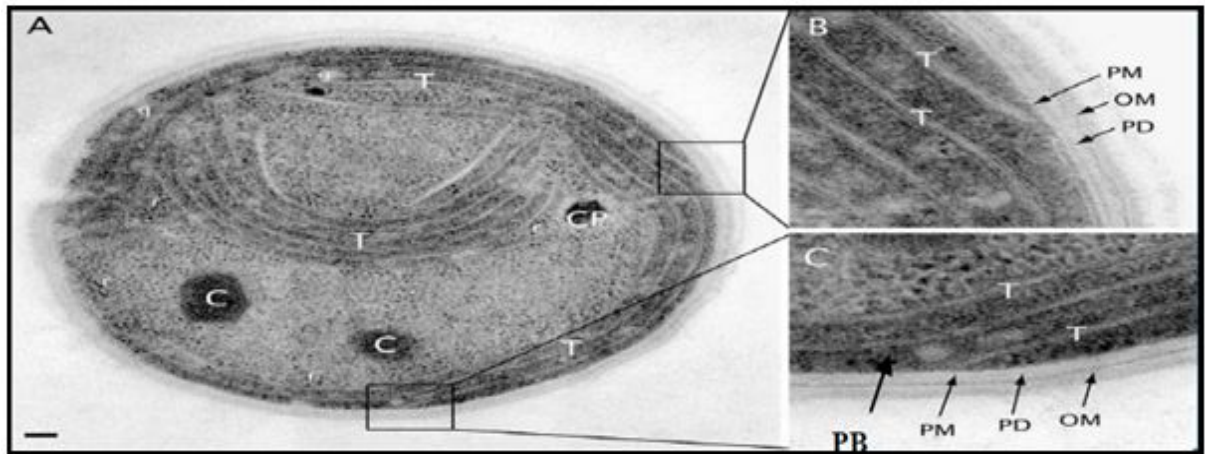


Figure 4. Microphotographies électroniques à transmission de l'ultrastructure de *Synechocystis* sp. (**Liberton et al., 2006**).

A) coupe transversale de *Synechocystis* sp. (T) Thylakoïdes ; (C) Carboxysome ; (CP) granule de Cyanophycine; (g) granule de Glycogène; (r) Ribosomes. *B et C)* détails des thylakoïdes et de la paroi, (PM) Membrane Plasmique ; (OM) Membrane Externe ; (PD) couche de Peptidoglycane ; (PB) Phycobilisomes.

I.1.4.4. Le centroplasma

Le nucléoplasme est l'équivalent du noyau mais sans membrane nucléaire, ni chromosome individualisé (**Bourrelly, 1985**). Il contient des fibrilles d'ADN qui ne sont pas associées à des protéines basiques (les histones) (**Silvano, 2005**).

I.1.4.5. Les inclusions

D'après **Bourrelly (1985)**, **Silvano (2005)** et **Madigan et Martinko (2007)**, plusieurs inclusions granulaires peuvent être observées en microscopie électronique :

- **Granules de polyglycane (grains de glycogène) :** il s'agit de petits granules de polyglucose, de forme soit ovoïdes, soit allongés, colorés en rouge-brun par la solution d'iode. Leur nombre varie en fonction de la lumière, de la teneur en azote et de l'âge des cultures. Ils sont placés entre les thylakoïdes dans les cellules en pleine activité photosynthétique puisqu'ils sont le résultat de la photosynthèse (**Figure 3**).

- **Granules de cyanophycine** : ce sont des inclusions de grande taille composées de protéines stockées sous forme de polypeptides, contenant généralement de l'acide aspartique et de l'arginine (**Figure 3**).
- **Granules de polyphosphates ou volutine** : ce sont des granules sphériques qui stockent les phosphates. Ces granules sont absents chez les cellules jeunes en pleine croissance ou chez les cellules croissantes dans un milieu pauvre en phosphates. Par contre, ils sont abondants dans les cellules âgées.
- **Carboxysomes** : ce sont des corps polyédriques placés au centre de la cellule. Ils renferment principalement la rubilose 1,5 diphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco), enzyme responsable de la fixation du dioxyde de carbone (CO₂) (**Figure 3**).
- **Ribosomes** : ces structures cytosoliques de 70S sont dispersées à travers la cellule, mais abondants dans la région centrale autour du nucléoplasme (**Figure 3**).
- **Globules lipidiques** : ce sont des granules sphériques ou allongés à membrane simple. Ils renferment des acides gras, des stérols et d'alcools triterpéniques.
- **Vacuoles gazeuses** : elles sont composées de vésicules gazeuses ou de tubes cylindriques creux à bouts coniques. Elles peuvent se rencontrer dans le cytoplasme de toutes les cyanobactéries à l'exception des espèces de la famille des *Chamaesiphonacées*, algues bleues exclusivement benthiques (fixés aux substrats immergés). La membrane rigide délimitant ces vacuoles gazeuses n'est pas de nature lipoprotéique. Elle est constituée de protéines disposées en spirale autour de la vésicule.

I.1.5. Description physiologique

I.1.5.1. Photosynthèse et fixation d'azote

Les cyanobactéries sont des organismes procaryotes capables de réaliser la photosynthèse oxygénique. Elles utilisent la lumière comme source d'énergie pour scinder la molécule d'eau, afin de produire de l'ATP, de NADPH et de l'oxygène nécessaires respectivement à l'assimilation des nutriments et à la respiration. Ceci est associé à la présence de photosystèmes de type I et II (PSI, PSII) (**Zehr et al., 2008**). Ces deux centres de réaction sont similaires à ceux des eucaryotes mais chez les cyanobactéries, ces structures, appelées phycobilisomes sont attachées en périphérie de la membrane thylakoïdienne (**Glazer, 1982**). La capture du flux lumineux nécessaire à la photosynthèse est faite dans les thylakoïdes par la chlorophylle *a* et par les phycobiliprotéines (**Lee et al., 2000**).

Beaucoup de cyanobactéries sont capables non seulement de réaliser la photosynthèse mais encore de fixer l'azote moléculaire ou gazeux «N₂» de l'atmosphère et de le transformer

en ammonium, forme accessible aux réactions biologiques (Issa *et al.*, 2014). En effet, ces bactéries font intervenir des hétérocystes pour fixer l'azote aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose. Environ 5 à 10% des cellules se transforment en hétérocystes lorsqu'elles sont privées de nitrate et d'ammoniac. Lorsque les cellules individuelles d'un filament se différencient en hétérocystes, elles réorganisent leurs membranes photosynthétiques et dégradent les protéines de PSII et des phycobilisomes. Le PSI reste fonctionnel pour produire de l'ATP, sans production d'oxygène. Cette incapacité de générer de l'oxygène est essentielle car la nitrogénase, enzyme responsable de la fixation d'azote, est extrêmement sensible à ce gaz. Ainsi, l'épaisse paroi de l'hétérocyste ralentit ou empêche la diffusion d'oxygène dans la cellule (Prescott *et al.*, 2010).

Les hétérocystes sont connectées aux cellules végétatives adjacentes, permettant un échange mutuel de composés entre ces cellules (Figure 5). Les produits de la photosynthèse migrent des cellules végétatives vers les hétérocystes et les produits de la fixation de l'azote migrent des hétérocystes vers les cellules végétatives (Madigan et Martinko, 2007).

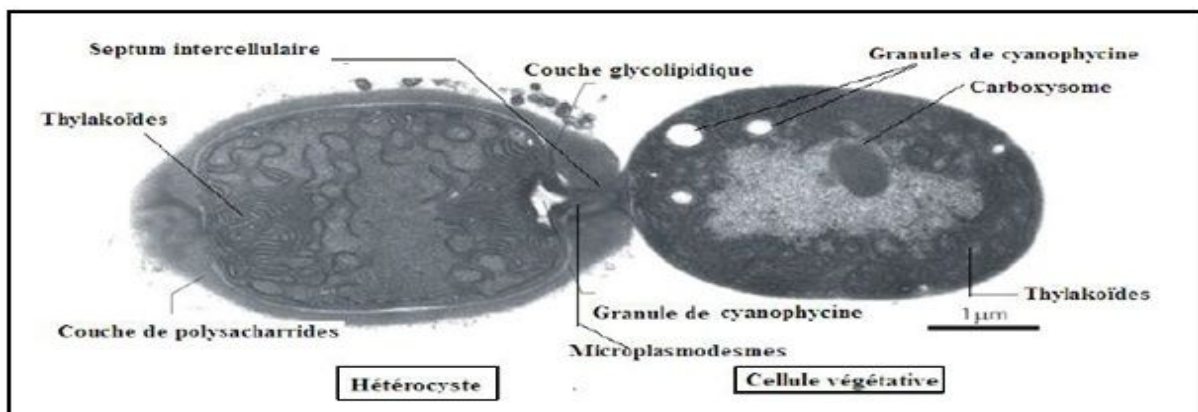


Figure 5. Microphotographie à transmission d'un hétérocyste terminal et de la cellule végétative adjacente d'un filament d'*Anabaena sp.* PCC 7120 (Flores et Herrero, 2010).

I.1.5.2. Mode nutritionnel

Les cyanobactéries sont dotées d'une flexibilité métabolique considérable et leur mode nutritionnel peut être de trois types (Lee *et al.*, 2000 ; Bruno de Reviers, 2003):

- **Photolithotrophie stricte :** ces cyanobactéries ne peuvent croître qu'en présence de lumière, leur donneur d'électrons est minéral (H_2O ou H_2S) et leur source de carbone est inorganique (CO_2).

- **Photohétérotrophie** : pour ce groupe, la croissance se fait également en présence de lumière. Bien que leur source d'électrons est minérale (H_2O ou H_2S), ces cyanobactéries sont capables d'utiliser une source de carbone inorganique ou organique.
- **Chimiohétérotrophie facultative**: ces cyanobactéries sont phototrophes en présence de lumière, mais leur croissance peut également se dérouler dans l'obscurité en utilisant une source de carbone (limitée au glucose, au fructose et à quelques disaccharides).

La croissance des cyanobactéries dépend d'abord de la température, de la lumière, de potentiel d'hydrogène (pH) ainsi que de la présence de sources inorganiques d'azote et de phosphore. Elles prolifèrent à une température, comprise entre 15°C et 30°C, avec un optimum de croissance à des températures typiquement élevées autour de 25°C (**Robarts et Zohary, 1987 ; Carmichael et al., 1990**). Ces bactéries préfèrent un pH compris entre 7,0 et 8,5, et elles croissent mieux en présence d'une lumière d'intensité modérée bien qu'elles puissent tolérer des niveaux faibles de lumière. La forte luminosité d'été est habituellement photo-inhibitrice (**Lang et Whitton, 1973 ; Skulberg et al., 1984 ; Carmichael et al., 1990 ; Mur et al., 1999**).

Certains produits métaboliques des cyanobactéries revêtent une importance pratique considérable. De nombreuses cyanobactéries synthétisent une très grande variété de molécules toxiques appelées cyanotoxines. Ces toxines sont responsables d'intoxications humaines et animales, parfois mortelles (**Zhou et al., 2002 ; Madigan et Martinko, 2007**).

De nombreuses cyanobactéries sont aussi responsables d'odeurs et de goûts désagréables en eau douce, ce qui peut poser des problèmes si ce type d'eau est utilisé pour la consommation. Le principal composé produit est la *géosmine* (trans-1,10-diméthyl-trans-9-décalol). Cette substance qui est aussi produite par certains actinomycètes est responsable de l'odeur de « terre » caractéristique des sols humides fraîchement retournés (**Madigan et Martinko, 2007**).

I.1.6. Description génétique

Les cyanobactéries constituent un groupe génétiquement et morphologiquement très hétérogène. Cette hétérogénéité est reflétée par la taille de leurs génomes allant de 2400 à 12.900 Kb. Les souches unicellulaires ont généralement un génome de taille réduite équivalent à celui des bactéries, alors que les souches filamenteuses, dont la morphologie et les propriétés physiologiques sont plus complexes, ont un génome de taille quatre fois supérieure à celui d'*Escherichia coli* (**Herdman et al., 1979a ; Roger, 2006**). Une grande diversité se retrouve aussi dans le pourcentage en guanosine et cytosine (% GC) qui peut

varier de 35 à 71% selon les genres, les espèces et à l'intérieur d'un même genre (**Herdman et al., 1979 b**).

Le génome cyanobactérien code un ensemble commun de 1054 familles de protéines. Seulement 50 gènes ont été trouvés uniques aux cyanobactéries et 84 sont spécifiquement partagés entre les cyanobactéries et les eucaryotes phototrophes (**Mulkidjanian et al., 2006**).

La plupart des cyanobactéries possèdent un ou plusieurs plasmides, dont les tailles sont comprises entre 1,3 Kb et 400 Kb environ (**Castets et al., 1986 ; Rebière et al., 1986 ; Tandeau de Marsac et Houmard, 1987**).

I.1.7. Mode de reproduction

Les cyanobactéries se reproduisent par voie asexuée (**Bourelly, 1985**):

- Chez les formes unicellulaires, comme pour les *Chroococcales*, la division successive de la cellule mère libère des nanocystes (spores de petite taille et sphériques). Dans le cas des *Pleurocapsales*, une cellule devient un sporocyste et se divise plusieurs fois. Elle garde son contenu à l'intérieur de la membrane (endospores ou baeocytes) et l'émission des spores se fait par ouverture de la membrane pour libérer des baeocytes. Par contre, chez *Chamaesiphon*, la cellule fixée à la base s'accroît en longueur, perce la paroi cellulaire à son sommet et subit une série de divisions transversales pour donner une succession de spores (des exospores).
- Chez les formes filamenteuses, la fragmentation se fait au niveau des nécridies et les hormogonies libérées peuvent se disperser.

I.1.8. Habitat

Les cyanobactéries sont largement distribuées dans les habitats naturels terrestres, dulçaquicoles et marins (**Madigan et Martinko, 2007**). En général, elles résistent mieux aux conditions environnementales extrêmes que les algues et sont souvent les organismes phototrophes dominant ou même unique dans les sources chaudes (genre *Synechococcus* observé dans des sources thermales à plus de 70°C) (**Castenholz, 2001**), les surfaces rocheuses de régions désertiques (**Yeager et al., 2007**), les lacs à salinité élevée ou même hypersalins (**Dillon et al., 2009**), ainsi que dans certains lacs des régions polaires où les températures sont très basses (**Taton et al., 2003 ; Jungblut et Neilan, 2006**).

Dans les sols désertiques, soumis à une lumière solaire intense, les cyanobactéries forment souvent des croûtes superficielles étendues, restant en dormance la plupart de l'année et ne poussent que pendant le bref hiver et les pluies printanières. Dans les baies marines peu profondes, où l'eau présente des températures relativement élevées, des tapis très épais de

cyanobactéries peuvent se former. Dans les lacs d'eau douce, en particulier ceux qui sont riches en élément nutritifs, des efflorescences ou des blooms de cyanobactéries (des phases de prolifération massive), peuvent se développer (**Madigan et Martinko, 2007**).

Par ailleurs les cyanobactéries réussissent particulièrement bien à établir des relations symbiotiques avec d'autres organismes (**Prescott *et al.*, 2010**). Ces bactéries sont des symbiotes de champignons (formation des lichens), de diverses plantes (hépatiques, mousses, gymnospermes et angiospermes), des éponges, ou encore des protistes (**Adams et Duggan, 2008**). Elles fournissent à ces hôtes de l'azote et des carbones fixés (provenant réciproquement du N₂ et du CO₂) (**Lee *et al.*, 2000 ; Adams et Duggan, 2008**).

Cette ubiquité des cyanobactéries est liée à leur grande faculté d'adaptation. Elles ont développé un arsenal de stratégies physiologiques, métaboliques, et écologiques qui leur confère une plasticité environnementales extrême (**Kerbrat, 2010**).

I.1.9. Répartition dans le monde et en Algérie

I.1.9.1. Répartition dans le monde

D'après les travaux de synthèse réalisés par **Whitton et Sinclair (1975)** et **Bourelly (1985)**, les cyanobactéries sont présentes dans tous les pays du monde et en tout lieu, aussi bien dans les milieux aquatiques (des eaux douces aux eaux hypersalées) que dans les milieux désertiques.

Les travaux publiés durant cette dernière décennie montrent une augmentation notable des efflorescences toxiques. Les pays les plus souvent cités sont ceux de l'Union Européenne ainsi que l'Afrique du Sud, la Chine, Taiwan, le Japon, l'Australie, le Canada, les USA, le Chili et le Brésil (**Figure 6**) (**Sivonen et Jones, 1999**).



Figure 6. Répartition des cyanobactéries dans le monde (Bonilla, 2008).

I.1.9.2. Répartition en Algérie

En Algérie, les cyanobactéries sont répertoriées presque dans tous les lacs et les Oueds du pays, surtout dans les zones soumises à une forte eutrophisation (enrichissement en nutriments du milieu). Elles sont capables de proliférer rapidement et de former des efflorescences (Necib *et al.*, 2014).

En effet, les travaux réalisés dans le barrage de Hammam Dbagh à Guelma ont montré selon Bensdira (2000), la présence de 4 genres et l'omniprésence du genre *Microcystis*. Cependant Aissani (2003) a signalé dans ce même milieu 10 genres de cyanobactéries avec l'omniprésence du genre *Gomphosphaeria*.

Par ailleurs dans le lac Tonga et dans le barrage de Cheffia à El Taref, Matmed (2000) et Nasri *et al.* (2007) ont montré l'omniprésence du genre *Microcystis*. Cependant, dans le lac Oubeira, c'est le genre *Anabaena* qui prédomine (Menail, 2000 ; Boulesnane et Chaibi, 2002).

Dans le barrage Mexa à El Taref, Ouartsy *et al.* (2011) ont montré la présence des genres *Microcystis*, *Chroococcus*, *Merismopedia*, *Planktothrix*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Pseudanabaena* et *Spirulina* avec la dominance du genre *Microcystis*. Enfin, dans le barrage de Ain Dalia à Souk Ahras, Agouni (2013) a montré la présence de 12 genres de cyanobactéries avec la dominance du genre *Oscillatoria*.

Les cyanobactéries sont également présentes dans la Lagune Tamelaht à Bejaia. En effet, les analyses des échantillons d'eau provenant de cette lagune ont permis d'identifier 23 espèces de cyanobactéries (Dehbi Zebboudj *et al.*, 2013).

Dans les sources thermales, les travaux de **Amarouche-Yala (2015)** ont montré que la source de Bouhadjar à Ain Temouchent, se trouve en tête de liste des dix-neuf sources prospectées, avec 11 espèces différentes pour la majorité des *Chroococcales*, suivie de la source de Sidi Yahia à Bejaia avec 10 espèces différentes dont la majorité appartient aux *Oscillatoriales* et en troisième position la source de Meskhoutine à Guelma avec 9 espèces différentes, appartenant pour la plupart aux *Oscillatoriales*.

I.1.10. Usages

Les micro-organismes photosynthétiques de types cyanobactéries tendent à s'imposer dans de nombreux secteurs applicatifs. Leur large potentiel d'applications revient à la spécificité de leur métabolisme photosynthétique par rapport aux micro-organismes hétérotrophes, et à leur biodiversité importante (**Pruvost et al., 2011**).

I.1.10.1. Alimentaire

Le taux de croissance plus important que celui des plantes supérieures et la fraction protéique remarquable ont positionné les cyanobactéries comme un gisement d'intérêt à l'avenir de la nutrition humaine (**Sialve et Steyer, 2013**).

Parmi ces bactéries *Spirulina platensis* (ou *Arthrospira platensis*) plus connue sous le nom de l'algue « Spiruline » est consommée depuis des siècles par certains peuples primitifs d'Afrique et d'Amérique. Compte tenu de sa richesse en protéines, glucides, lipides, vitamines et minéraux, elle semble actuellement l'une des meilleures solutions pour la production simple d'un complément alimentaire de haute qualité afin, d'améliorer la santé humaine, et la nutrition dans les pays du tiers-monde (**Sguera, 2008**).

La spiruline n'est pas exclusivement réservée à la consommation humaine. Elle est en effet utilisée comme complément alimentaire pour les animaux d'élevage et de compagnie (**Rongead et Gneclie, 2011**).

Les cyanobactéries sont également utilisées comme colorant naturel grâce aux extractions de la phycocyanine, la chlorophylle et les caroténoïdes. Ces colorants sont utilisés pour rendre attractifs les produits alimentaires. Ils sont également utilisés dans la fabrication des chewing gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, et boissons non alcoolisées (**Guillou et al., 2006 ; Rongead et Gneclie, 2011**).

I.1.10.2. Agronomique

Les cyanobactéries assurent la respiration et, chez certaines espèces, la fixation de l'azote atmosphérique. Ainsi, certaines cyanobactéries sont utilisées en agriculture comme

engrais biologique pour la fertilisation des sols pauvres, en particulier les sols sahariens squelettiques (Chader et Touzi, 2001 ; Charpy *et al.*, 2004).

I.1.10.3. Energétique

En raison de leur performance photosynthétique et de leur temps de génération relativement court, les cyanobactéries peuvent jouer un rôle dans la production des matériaux conservateurs d'énergie tels que les biocarburants, y compris le bioéthanol ou l'hydrogène (Su *et al.*, 2013 ; Chow *et al.*, 2014 ; Mollers *et al.*, 2014).

I.1.10.4. Thérapeutique

Les cyanobactéries produisent une grande variété de métabolites bioactifs dont les activités biologiques sont diverses et multiples (Rezanka et Dembitsky, 2006 ; Tan, 2007). Ces composés bioactifs peuvent être des métabolites primaires comme les glucides, les protéines, les acides gras, les vitamines ou les pigments (Borowitzka, 1988 a et b, 1995) et/ou des métabolites secondaires tel que les composés phénoliques (Pedersen et Da Silva, 1973; De Cano *et al.*, 1990 ; Volk, 2005), les peptides, les alcaloïdes, les terpénoides et les glycosides (Ramamurthy, 1970 ; Bonjouklian *et al.*, 1991).

La plupart de ces métabolites sont accumulés dans la biomasse cyanobactérienne, mais cela n'empêche pas que certaines cyanobactéries (*Nostoc commune*, *Tolypothrix byssoidea*, *Nodularia harveyana*, *Anabaena cylindrica*, *Arthrospira platensis*...) excrètent ces métabolites dans leur environnement, d'où leurs nominations par certains auteurs d'exométabolites ou de métabolites extracellulaires (Jaki *et al.*, 1999 ; Lacap *et al.*, 2005 ; Volk, 2005 ; Volk, 2008).

Bien que le genre *Spirulina* soit le plus connu des cyanobactéries, le plus grand nombre de biomolécules actives provient jusqu'à présent du genre *Lyngbya*. Ce genre est très représentatif des propriétés biologiques des cyanobactéries en général soit leur toxicité. La recherche d'extrait et de molécules actives par criblage sur des espèces de cyanobactéries reconnues pour leur toxicité permettrait très probablement d'obtenir de nouvelles structures chimiques d'intérêt pour la lutte contre certaines maladies métaboliques et infectieuses (Guillou *et al.*, 2006). Parmi les activités biologiques des cyanobactéries :

○ Activité antibactérienne

Les cyanobactéries en général, synthétisent et secrètent des substances diverses, précisément bioactives, qui présentent une activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries d'intérêt sanitaire (Trabelsi *et al.*, 2010 ; Singh *et al.*, 2011).

La majorité des tests d'activité antibactérienne ont été effectués *in vitro*. Les applications médicales potentielles apparaissent cependant réduites, au vu de la toxicité ou de l'inactivité des produits révélées par les tests *in vivo*. Toutefois, ces composés peuvent servir de modèles moléculaires pour la recherche de nouveaux principes actifs (**Muller-Feuga, 1997**).

○ **Activité antioxydante**

Les composants phycocyanines et allopcyanines retrouvés chez les cyanobactéries, ont des propriétés antioxydantes. Cependant, la structure chimique de la phycocyanine est très proche de la structure de la bilirubine, produit de dégradation de l'hémoglobine. La bilirubine est connue pour être un antioxydant physiologique important (**Charpy *et al.*, 2004 ; Sguera, 2008**). Cette propriété permet leurs indications pour la prévention contre le vieillissement et les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson) (**Schmitz, 2014**).

○ **Activité antivirale**

Les cyanobactéries ont une puissante activité antivirale grâce à la phycocyanine qu'elles contiennent. Elles sont capables d'inhiber la réplication de plusieurs virus, dont le virus Herpès simplex, le cytomégalovirus, le virus de la rougeole et des oreillons, le virus de la grippe A et le virus du sida (VIH) (**Sguera, 2008 ; Schmitz, 2014**).

○ **Activité anticancéreuse**

Certaines formes communes de cancers sont le résultat d'un ADN cellulaire endommagé, provoquant une croissance cellulaire anarchique. En temps normal, ce phénomène est évité grâce à un ensemble de processus enzymatiques par lesquels une cellule identifie et corrige les dommages du génome. Cependant, sous l'effet de différentes toxines les enzymes peuvent être désactivées et les brins d'ADN endommagés ne sont pas réparés, c'est dans ces conditions que le cancer peut se déclarer. Les substances bioactives des cyanobactéries ont le pouvoir d'inhiber les cassures des brins d'ADN, d'améliorer l'activité enzymatique du noyau cellulaire et de réparer l'ADN endommagé (**Sguera, 2008 ; Schmitz, 2014**).

Le **tableau 2** présente les principales biomolécules actives obtenues à partir de quelques espèces de cyanobactéries.

Tableau 2. Molécules actives extraites des cyanobactéries (Guillou *et al.*, 2006).

Espèces	Biomolécules	Catégorie	Activités/Intérêts	Année
Plusieurs genres mais plus particulièrement <i>Spirulina sp.</i>	Phycocyanine phycoérythrine	Pigments	Pigment fluorescent utilisés comme réactifs dans des tests diagnostics et comme pigments naturels dans les aliments et les cosmétiques.	1985 1988 2005
<i>Arthrospira</i> (<i>Spirulina platensis</i>)	Phycocyanine	Pigments	Inhibiteur, dose dépendant, de l'activité enzymatique de la lipase pancréatique <i>in vivo</i> chez le Rat. Diminution de l'absorption intestinale des lipides.	2006
	Glycolipide H-b2	Glycolipides	Inhibiteur, dose dépendant, de l'activité enzymatique de la lipase pancréatique <i>in vivo</i> chez le Rat. Diminution de l'absorption intestinale des lipides.	2006
	Non identifiée	Polysaccharides	Effet antitumorale <i>in vivo</i> chez la Souris. Améliore l'inhibition de la prolifération du CFU-GM et de l'apoptose induite par CTX (Cyclophosphamide) sur des cellules hématopoïétiques.	2002
	Non identifiée	Polysaccharides	Activité immunostimulante <i>in vivo</i> . Augmente le taux des globules blancs et des cellules nucléées et de l'ADN de la moelle osseuse chez les souris (30-60 mg/kg) mais n'a pas d'effet sur les globules rouges et sur l'hémoglobine. Augmente le taux des globules rouges, des globules blancs, de l'hémoglobine dans le sang et les cellules nucléées de la moelle osseuse chez les chiens (12 mg/kg).	2001
	Extrait aqueux		Activité immunostimulante <i>in vivo</i> chez l'Homme. Améliore les fonctions NK (Natural Killer) représentées par la production d'IFN γ et la cytolyse chez plus de 50 % des sujets ayant consommés d'extrait algal.	2002
<i>Spirulina platensis</i> <i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	Immunulina immunon	Polysaccharides	Activité immunostimulante importante <i>in vitro</i> . Les valeurs EC ₅₀ de ces polysaccharides pour l'activation immunitaire sont comprises entre 20 et 110 mg/L (environ 10 pM). Ils sont entre 100 à 1000 fois plus actifs pour l'activation des monocytes que les préparations de polysaccharides couramment utilisées dans l'immunothérapie du cancer.	2001
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> <i>Tychonema bourrellyi</i> <i>Microcystis aeruginosa</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	Extraits éthanoliques et méthanoliques		Les extraits méthanoliques ont le pouvoir antibactérien le plus prononcé <i>in vitro</i> .	1998

<i>Lyngbya majuscula</i>	Malyngamides	Amides chlorées	Nombreuses propriétés biologiques dont, antimicrobiennes, ichtyo-toxiques, antiappétants, cytotoxiques, immunosupresseurs.	2001
	Curacines A, B, C et D	Cyclopropane thiazoline	Puissants antimitotiques donc anti-cancers potentiels. La curacine A et des analogues structuraux ont été brevetés en 1998.	1994 1995 1998
	Microcolines A et B	Pentapeptides	Intenses propriétés immunosuppressives et antiprolifératives.	1992
	Laxaphycines A et B	Polypeptides	Activités cytotoxiques et antifongiques.	1997
	Ypaoamide	Dipeptides	Fortement antiappétants.	1996
	Antillatoxine B	Cyclodepsipeptides	Propriétés neurotoxiques.	2001
	Apratoxine A	Cyclodepsipeptides	Très fortement cytotoxique <i>in vitro</i> pour différentes lignées tumorales humaines avec des DL ₅₀ de 0.36 à 0.52 nM.	2001
	Pitipeptolides A et B	Cyclodepsipeptides	Modérément cytotoxiques.	2001
	Majusculamide C	Cyclodepsipeptides	Activité antifongique.	1984
	Lyngbyastines 2	Cyclodepsipeptides	Activités cytotoxiques.	1999
	Lyngbyatoxines A	Alcaloïdes indoliques	Composé cytotoxique responsable de dermatites des baigneurs à Hawaii.	1979
<i>Schizothrix sp.</i>	Schizothrine A	Undécapeptides cycliques	Forte activité antibactérienne.	1994
<i>Oscillatoria agardhii</i>	Microviridines D et E	Cyclodepsipeptides	Inhibiteurs de la sérine protéase. Cet enzyme intervient dans certains troubles cardiovasculaires.	1996
<i>Scytonema varium</i>	Scytovirin	Protéine	Antivirale topique potentielle contre le HIV en essais précliniques.	2006

I.2. Les métabolites des cyanobactéries

La plupart des études traitant les constituants des cyanobactéries ont été réalisées sur *Spirulina platensis*. Cette espèce sert de référence, car sa composition est relativement constante même si elle varie selon la souche, les conditions de culture et le mode de conditionnement (Salle *et al.*, 1999 ; Charpy *et al.*, 2008).

I.2.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur propriété nécessaire et vitale à la survie de la cellule ou de l'organisme (Diallo, 2000).

I.2.1.1. Protéines

La teneur en protéines des cyanobactéries est élevée, représentant 50 à 70% du poids sec de la spiruline. Ces pourcentages sont tout à fait exceptionnels, même parmi les micro-organismes. D'un point de vue qualitatif, ces protéines ont une très haute valeur biologique car elles renferment tous les acides aminés essentiels (Bujard *et al.*, 1970). Parmi ces derniers, les plus faiblement représentés sont les acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) (Clément *et al.*, 1967 ; Bujard *et al.*, 1970 ; Aychunie *et al.*, 1996).

I.2.1.2. Lipides

La composition en lipides totaux des cyanobactéries se caractérise par un bon équilibre entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés (Clément, 1975). Elle se subdivise en deux fractions : une fraction saponifiable «ou acides gras» (83%) et une fraction insaponifiable (17%) (Clément, 1975). La fraction saponifiable est essentiellement composée de monogalactosyl diglycérade, de digalactosyl diglycérade, de sulfoquinovosyl diglycérade et de phosphatidyl glycérol. Les triglycérides ne sont présents qu'à de très faibles taux. Ces glycolipides sont les composants lipidiques majeurs des membranes photosynthétiques des cyanobactéries (Xue *et al.*, 2002 ; Charpy *et al.*, 2004 ; Charpy *et al.*, 2008). Les sulfolipides tels les sulfoquinovosyl diglycérides qui représentent 5% de la fraction saponifiable, intéressent les chercheurs pour leur activité protectrice contre des infections virales (Kiet et Durand Chastel, 2006). Concernant la fraction insaponifiable, elle est composée essentiellement de stérols, de terpènes, d'hydrocarbures saturés (paraffines) et de pigments (Fox, 1999). Chez les spirulines, les lipides représentent généralement de 6 à 8% du poids sec mais ce pourcentage peut atteindre 11% (Hudson et Karis, 1974).

I.2.1.3. Glucides

Les hydrates de carbone des cyanobactéries sont constitués principalement de polymères dont le rhamnose, le glycogène et le glucane. Cependant, les glucides simples ne sont présents qu'en très faibles quantités (**Charlemagne, 2008 ; Charpy *et al.*, 2008**). Chez les spirulines, les glucides constituent 15 à 25 % de la matière sèche (**Fox, 1999 ; Falquet et Hurni, 2006**). Ces polysaccharides présentent de multiples intérêts thérapeutiques, notamment dans la stimulation des mécanismes de réparation de l'ADN (**Pang *et al.*, 1988**) , dans son effet radio-protecteur et dans la neutralisation des radicaux libres (**Qishen *et al.*, 1989**).

Les parois cellulaires des cyanobactéries s'apparentent à celles des bactéries Gram-négatif. En effet, elles sont formées de glucosamines et d'acide muramique associés à des peptides (**Rongead et Gneclie, 2011**).

Un nouveau polysaccharide d'un poids moléculaire élevé a été isolé chez *Spirulina platensis*. Cet activateur potentiel des monocytes et macrophages humains a été nommé «Immulina». Ce polysaccharide, structurellement complexe et fortement hydrosoluble, représente entre 0,5% et 2% du poids sec de cette cyanophycée (**Charpy *et al.*, 2008**).

I.2.1.4. Vitamines

Les cyanobactéries possèdent une large gamme de vitamines. Parmi les hydrosolubles, ces bactéries contiennent les vitamines du groupe B, notamment la vitamine B12. En effet, ces micro-organismes sont la seule source connue de cette vitamine. Alors que la vitamine C n'existe qu'à l'état de trace (**Charpy *et al.*, 2008**). Les trois vitamines liposolubles trouvées chez les cyanobactéries sont le β -carotène, précurseur de la vitamine A, la vitamine E et la vitamine D (**Sguera, 2008**).

I.2.1.5. Pigments

Les cyanobactéries contiennent une large variété de composants colorés incluant les chlorophylles dont la chlorophylle *a* (typique des végétaux), les caroténoïdes dont le principal est le β -carotène et les phycobiliprotéines (**Charpy *et al.*, 2008**).

- Les chlorophylles sont des macrocycles tétrapyrroliques métallés par du magnésium et substitués par une chaîne phytyle (**Figure 7**). Ce sont des pigments essentiels de la photosynthèse puisqu'elles assurent d'une part la collecte énergétique des photons, et d'autre part le transfert d'énergie permettant ainsi la transformation du dioxyde de carbone et de l'eau en molécules organiques (**Jahn *et al.*, 1984**). Elles sont connues pour leur pouvoir nettoyant et purifiant (**Rongead et Gneclie, 2011**).

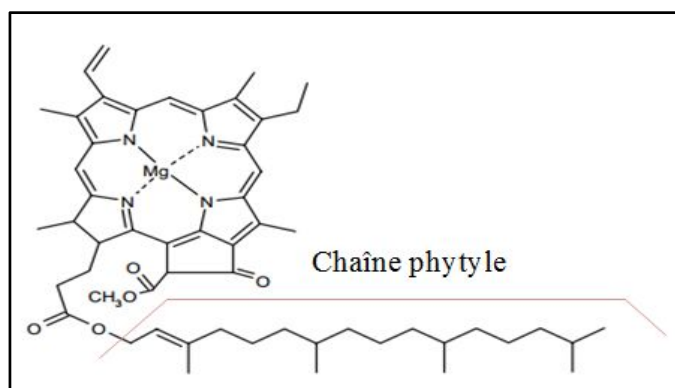


Figure 7. Structure de la chlorophylle *a* (Jahn *et al.*, 1984).

- Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles composés d'unités isoprènes. Chez les spirulines, le β -carotène représente 80% des caroténoïdes présents, le reste étant principalement composé de xanthophylle, de cryptoxanthine, d'échinénone, de zéaxanthine et de lutéine (Yan *et al.*, 1999 ; Charpy *et al.*, 2008). Les caroténoïdes ont une action antiradicalaire, ils participent également à la croissance et au développement de l'individu, ainsi qu'au maintien de la vision nocturne (Charlemagne, 2008).
- Les phycobiliprotéines sont des molécules hydrosolubles comportant une partie protéique liée de façon covalente à des chromophores ou bilines. Ces derniers sont composés de groupes tétrapyrroliques non cyclisés. Il existe trois familles de phycobiliprotéines, les phycoérythrine (rouges), les phycocyanine (bleues) et les allophycocyanine (bleu turquoise). Leur rôle physiologique est de capter les photons de longueurs d'ondes différentes de ceux captés par les chlorophylles et de transférer cette énergie aux complexes chlorophylliens (Jahn *et al.*, 1984). La phycocyanine est un pigment assez rare dans la nature qui absorbe la lumière dans une longueur de 61 à 650 nm. Sa structure particulière lui confère des propriétés antioxydantes, antiradicalaires, anti-inflammatoires, anti-tumorales, amélioration du système immunitaire, hépatoprotection et détoxification (Charlemagne, 2008 ; Schmitz, 2014).

I.2.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires représentent toute substance présentes chez un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante par opposition aux métabolites primaires, et dont la nature et la teneur peuvent être modifiées par des facteurs abiotiques, facteurs environnementaux spatiaux (exposition, climat, ...) ou temporels (saison, âge, ...), et les molécules induites par des facteurs biotiques, telles les phytoalexines

excitées par la présence d'un pathogène. Les plus grands groupes de métabolites secondaires sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. Ces métabolites présentent une énorme valeur économique (Alilou, 2012).

I.2.2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques (polyphénols) regroupent plusieurs classes chimiques qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Bruneton, 2009).

I.2.2.1.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes dérivent du latin *flavus* qui signifie jaune. Elles représentent la plus grande classe des polyphénols (Guignard, 1996). Ces composés possèdent un noyau flavone C₁₅ (C₆-C₃-C₆). Ils sont composés de deux cycles benzènes (Figure 8) liés par une chaîne en C₃ (Bruneton, 1999).

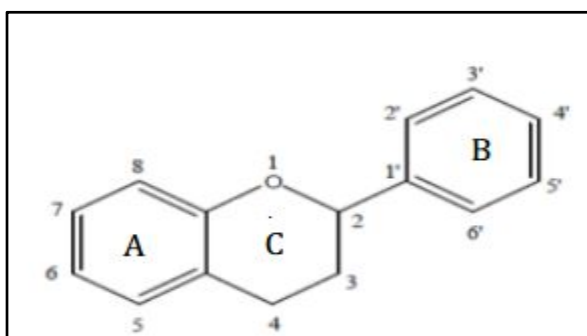


Figure 8. Structure générale de flavonoïde (Bruneton, 1999).

A et B : deux noyaux benzéniques ; C : hétérocycle oxygéné.

Les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont les suivantes: flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, isoflavanones, chalcones, aurones et anthocyanes (Harborne et William, 2000 ; Kuresh *et al.*, 2002). Les composés de chaque sous classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants sur les deux cycles aromatiques et le cycle intermédiaire (Julies et Christin, 2002).

De nombreux travaux montrent que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires, immunologiques (Da Silva *et al.*, 1994; Galati *et al.*, 1994 ; Middleton, 1996), antivirales (Spedding *et al.*, 1989), antinéoplasiques (Kato *et al.*, 1983), antioxydantes (Van Acker *et al.*, 1995) et antibiotiques. En effet, ils sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : *Staphylococcus aureus*

(Babayi *et al.*, 2004), *Escherichia coli* (Ulanowska, 2006), *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae* et *Proteus mirabilis* (Didrak, 1999 ; Modak, 2001 ; Ballal, 2005 ; Okigbo *et al.*, 2005).

I.2.2.1.2. Tanins

Ce sont des molécules de haut poids moléculaire, fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives. Ils servent de défense contre les micro-organismes et sont utilisés par l'Homme depuis l'antiquité pour le tannage des peaux. Les tanins sont divisés en deux groupes principaux d'après leurs structures et leurs propriétés :

a. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysés, sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre, généralement le glucose et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol : l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, ou l'acide hexahydroxy diphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins éllagiques (Harborne, 1998). Comme leur nom l'indique, ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique.

b. Tanins condensés

Ces composés diffèrent fondamentalement des tanins galliques et éllagiques. Leurs structures, voisines de celle des flavonoïdes, ne possèdent pas de sucre. Ces composés ont tendance à se polymériser spécialement en solution acide concentrée ou par action d'agents oxydants (Ribéreau, 1982 ; Schijlen *et al.*, 2004).

I.2.2.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent un groupe de métabolites secondaires très diversifiés retrouvés chez les organismes vivants. Ce sont des composés organiques azotés de faibles poids moléculaires et à caractère alcalin. Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques, certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques, dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine) (Bruneton, 1999 ; Zenk et Juenger, 2007). Les alcaloïdes sont également connus comme doués de propriétés antimicrobiennes (Faizi *et al.*, 2003). Parmi les alcaloïdes produits par les cyanobactéries, il existe :

- Les neurotoxines (organe cible le système nerveux) qui sont regroupées en deux familles : les anatoxines (l'anatoxine-a, l'anatoxine-a(s) et l'homoanatoxine-a) et la saxitoxine (**Chorus et Bartram, 1999**) ;
- Les dermatotoxines (organe cible la peau) comme la lyngbyatoxine A, les aplysiatoxines et la débromoaplysiatoxine qui sont des alcaloïdes retrouvés chez des cyanobactéries benthiques telles que *Lyngbya majuscula* Harvey ex Gomont, *Oscillatoria nigroviridis* et *Schizothrix calcicola* (**Cardellina et al., 1979**) ;
- Quelques hépatotoxines (organe cible le foie) comme la cylindrospermopsine. Cette dernière a été initialement isolée chez *Cylindrospermopsis raciborskii* (**Hawkins et al., 1985**), et a été depuis identifiée chez *Aphanizomenon ovalisporum* (**Banker et al., 1997, 2000**), *Anabaena bergii* (**Schembri et al., 2001**), *Umezakia natans* (**Terao et al., 1994**) et *Raphidiopsis curvata* (**Li et al., 2001**).

I.2.2.3. Composés terpéniques

Les composés terpéniques constituent une importante classe de produits secondaires, hydrophobes quelquefois volatils et unis par une origine commune. Ils sont formés d'unités de cinq carbones, unité isoprène, libérée à haute température. Chaque groupe de terpènes est issu de la condensation d'un nombre variable d'unités isopréniques (**Brunton, 1999**). Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes proprement dit monoterpènes en C10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C20, les triterpènes (C30) (exemple : les stéroïdes), les tétraterpènes (C40) (exemple : les caroténoïdes) et les polyterpènes (~4 000) (**Guignard, 1996**).

Les propriétés fondamentales des terpènes sont leurs caractères odoriférants et leurs sensibilités à la lumière. Un grand nombre d'entre eux possède des propriétés antiseptiques (**Klaas et al., 2002**).

I.2.2.4. Saponines

Les saponines sont sous forme d'hétérosides à l'état naturel, dont l'aglycone peut être de nature triterpénique ou stéroïdique. Les propriétés physico-chimiques les plus caractéristiques des saponines sont les modifications de la tension superficielle et le pouvoir moussant. Ces composés assurent la défense de l'organisme contre l'attaque microbienne ou fongique (**Manach et al., 2004**).

I.3. Les infections nosocomiales

I.3.1. Généralités

En épidémiologie, une infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation, tout en étant absente (ni symptomatique ni en incubation) à l'admission. Cependant, lorsque la situation à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après l'admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire. Toutefois, il est recommandé d'apprécier, dans chaque cas douteux, la plausibilité du lien causal entre hospitalisation et infection (**Bouvet et Grimont, 1989 ; Berche *et al.*, 1991 ; Schaffner, 1997 ; Popi, 2003**).

Pour les infections du site opératoire, on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les 30 jours suivant l'intervention, ou celles survenues dans les 90 jours en cas d'infection virale et celles survenues dans les 365 jours s'il y a eu mise en place d'une prothèse ou d'un implant (**Bouvet et Grimont, 1989 ; Schaffner, 1997 ; Popi, 2003**).

Les agents pathogènes responsables d'infections nosocomiales peuvent avoir deux origines. Dans le cas d'une **origine endogène**, les germes font partie de la flore commensale du patient, et ils sont présents chez le patient avant l'hospitalisation, au niveau des voies respiratoires, de la peau, de la sphère gastro-intestinale ou génitale. En cas d'une **origine exogène**, le patient est contaminé par ces micro-organismes au cours de l'hospitalisation. Ces agents pathogènes peuvent provenir de la flore transitoire, ou résidente du personnel soignant, ou de visiteurs, de dispositifs médicaux et même de l'environnement et des locaux hospitaliers (**Horan *et al.*, 2008**).

I.3.2. Agents microbiens responsables

Les infections nosocomiales sont dues à de très nombreux micro-organismes, incluant les bactéries, les virus, les parasites et les champignons. Cependant, les bactéries sont à l'origine de près de 90% des infections nosocomiales (**Berche *et al.*, 1991**). Les agents infectieux varient selon les populations de patients et les types d'établissements de santé (**OMS, 2002**).

I.3.2.1. Les bactéries

a. Les bactéries commensales

Ces bactéries présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé, jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes. Seulement, certaines peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte

sont affaiblies. A titre d'exemple, les Staphylocoques cutanés coagulase-négatifs provoquent des infections sur cathéter vasculaire, et les *Escherichia coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires (OMS, 2002).

b. Les bactéries pathogènes

Ces germes ont une virulence plus élevée. En effet, les bactéries à Gram positif tel que *Staphylococcus aureus* bactérie cutanée colonisante la peau et le nez du personnel hospitalier et des patients, provoque une grande variété d'infections pulmonaires, osseuses, cardiaques et sanguines. Les Streptocoques beta-hémolytiques sont également des agents pathogènes importants. Par ailleurs, les bactéries à Gram négatif tel que les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia marcescens*) peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies et provoquer des infections graves (infection du site opératoire, infection pulmonaire, bactériémie). D'autres bactéries à Gram négatif comme *Pseudomonas* spp., souvent isolées de l'eau et les milieux humides, peuvent coloniser les voies digestives des patients hospitalisés. De même, les bacilles anaérobies à Gram positif (*Clostridium*) provoquent la gangrène. Enfin, plusieurs autres bactéries représentent un risque spécifiquement hospitalier. En effet, les diverses espèces de *Legionella* peuvent provoquer des pneumopathies par inhalation d'aérosols impliquant de l'eau contaminée (climatisation, douches, aérosols à visée thérapeutique) (OMS, 2002).

I.3.2.2. Les virus

Il existe une possibilité de transmission nosocomiale pour de nombreux virus. Ceux des hépatites B et C sont transmis au cours des transfusions, dialyses ou injections. Le virus respiratoire syncytial, les rotavirus et les entérovirus sont transmis par contact main-bouche et par voie féco-orale. D'autres virus comme le cytomégalovirus, le VIH, le virus Ebola, les virus grippaux, les virus de l'herpès et le virus varicelle-zona sont également transmissibles (OMS, 2002).

I.3.2.3. Les champignons

L'émergence des champignons microscopiques comme agents pathogènes majeurs est notable. Ils prospèrent sur un terrain d'immunodépression et/ou à la suite ou au cours d'antibiothérapie à large spectre, et/ou d'alimentation parentérale. Les infections fongiques les plus récurrentes sont l'aspergillose dont l'origine est exogène, et les candidoses dont les sources peuvent être digestives ou provenant de solutions contaminées (collyres, liquide d'alimentation) (Pittet *et al.*, 1994).

I.3.2.4. Les parasites

Ils peuvent aussi revêtir un caractère nosocomial. Les plus fréquemment rencontrés sont le plasmodium lors des transfusions, *Sarcoptes scabiei* (agent de la gale) et le *Pneumocystis carinii* qui est l'agent opportuniste responsable de la pneumopathie nosocomiale en néonatalogie et chez les malades immunodéprimés (Guérin et Gouyon, 1993).

I.3.3. Mécanisme de transmission

I.3.3.1. Auto-infection

Ce type de transmission résulte d'une infection des malades par leurs propres germes, soit *in situ*, soit à partir de l'environnement immédiat (surface de la peau, vêtement, lit). Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur. Les complications infectieuses respiratoires, liées au décubitus et à ses conséquences sur le drainage des voies aériennes, se font parfois à partir des germes normalement présents dans les parties hautes du tractus respiratoire et peuvent être des auto-infections. Enfin certains malades immunodéprimés (aplasie médullaire, syndrome d'immunodéficience acquise) peuvent avoir des bactériémies dues aux germes intestinaux qu'ils hébergent. Ces infections, rigoureusement endogènes, sont aussi des auto-infections (Hygis, 1998).

I.3.3.2. Hétéro-infection

On parle d'hétéro-infection lorsqu'un agent infectieux est transporté d'un malade à un autre. L'agent infectieux est rarement transmis par contact direct (mains, gouttelettes de salive ou autres liquides biologiques) ou par voie aérienne (inhalation des particules infectieuses en suspension dans l'air). Le plus souvent le vecteur est le personnel soignant par ses mains ou ses instruments de travail. On parle d'infection manu portée ou d'infection transmise par le matériel d'exploration ou de soins. C'est le mode de contamination majeure lors de nombreuses épidémies et probablement le plus sensible aux mesures prophylactiques (Hygis, 1998).

I.3.3.3. Xéno-infection

Ce sont des infections qui sévissent sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par les malades, le personnel soignant, ou les visiteurs qui en sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. Dans ce cas, les germes se transmettent par voie aérienne, par contact direct ou indirect (Hygis, 1998).

I.3.3.4. Exo-infection

Cette infection est liée à des avaries techniques (stérilisation inefficace, filtre à air non stérile, eau polluée). Les matériaux à usage médical, paramédical ou domestique utilisés auprès des malades sont susceptibles d'être contaminés et peuvent ainsi provoquer des infections nosocomiales souvent épidémiques (Hygis, 1998).

I.3.4. Facteurs de risque infectieux

La survenue d'une infection nosocomiale va dépendre de nombreux facteurs (Allenet et Lebrun, 2000 ; OMS, 2002).

I.3.4.1. Facteurs liés aux pathogènes

Ils sont caractérisés par leur virulence et leur capacité à coloniser puis infecter un individu. La quantité de micro-organismes transmis est un facteur déterminant, car il existe une dose minimale infectante. La survenue de l'infection dépend aussi de la voie d'inoculation et il y'a évidemment moins de risques à recevoir quelques colonies de staphylocoques sur une peau saine qu'au cœur d'un foyer opératoire lors d'une chirurgie prothétique.

I.3.4.2. Facteurs liés au patient

Parmi les importants facteurs personnels qui entrent en jeu dans l'acquisition de l'infection figurent l'âge, l'état immunitaire, les maladies sous-jacentes et les interventions diagnostiques et thérapeutiques. Aux extrêmes de la vie (chez le nourrisson et la personne âgée) la résistance aux infections est amoindrie. Les patients atteints de maladies chroniques telles que les tumeurs malignes, la leucémie, le diabète, l'insuffisance rénale ou le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), sont plus vulnérables aux infections opportunistes. Celles-ci sont dues à des agents normalement inoffensifs, comme ceux qui font partie de la flore bactérienne humaine normale, mais qui peuvent devenir pathogènes lorsque les défenses immunitaires sont affaiblies. De même, les médicaments immunosuppresseurs ou l'irradiation peuvent abaisser la résistance aux infections. Les lésions de la peau ou des muqueuses permettent aux micro-organismes d'échapper aux mécanismes naturels de défense. Enfin, la malnutrition constitue également un risque d'infection.

Par ailleurs, de nombreuses techniques modernes utilisées à des fins diagnostiques ou thérapeutiques, telles que les biopsies, l'endoscopie, la pose de cathéters, l'intubation/la ventilation et l'aspiration ainsi que les interventions chirurgicales, augmentent le risque d'infection.

I.3.4.3. Facteurs environnementaux

Les établissements de santé constituent un environnement dans lequel se trouvent rassemblées des personnes infectées et des personnes chez lesquelles le risque d'infection est accru. Les patients atteints d'infections ou porteurs de micro-organismes pathogènes, lorsqu'ils sont hospitalisés, sont des sources potentielles d'infection pour les autres patients et pour le personnel. Ceux qui contractent une infection à l'hôpital constituent à leur tour une source d'infection.

Les hôpitaux surpeuplés, les fréquents transferts de patients d'un service à l'autre et la concentration, dans un même secteur, de patients hautement vulnérables à l'infection tels que les nouveau-nés, les brûlés ou les patients en unités de soins intensifs, sont des facteurs qui contribuent au développement d'infections nosocomiales.

Les germes présents dans la flore microbienne peuvent contaminer des objets, des dispositifs médicaux et des substances qui entrent ensuite en contact avec des sites anatomiques vulnérables. De plus, de nouvelles infections associées à des bactéries, par exemple des bactéries véhiculées par l'eau (mycobactéries atypiques) et/ou à des virus ou des parasites sont régulièrement identifiées.

I.3.5. Principales infections nosocomiales

Les cinq principaux sites d'infections nosocomiales qui représentent 70% des cas sont par ordre d'importance les infections urinaires (30 à 40%), les infections post-opératoires et pulmonaires, les infections à localisations diverses (peau, péritoine, tube digestif...), et enfin les bactériémies souvent induites par cathétérisme vasculaire. Ces pourcentages sont sujets à de grandes fluctuations selon les pays et les hôpitaux (**Berche *et al.*, 1991**).

I.3.5.1. Infections urinaires

Les infections urinaires contractées à l'hôpital sont déclenchées dans près de 75% des cas par un cathétérisme des voies urinaires ou par la mise en place d'une sonde à demeure. Dans le cas d'un cathétérisme isolé, les bactéries de l'urètre antérieur ou celles des mains de l'opérateur peuvent être introduites directement dans la vessie. On estime qu'une telle bactériurie est provoquée chez près de 6% des personnes hospitalisées subissant un cathétérisme isolé. Pour la mise en place des sondes à demeure, même lorsque le geste opératoire a été accompli rigoureusement, on estime que près de 25% des personnes vont présenter une infection urinaire dans les deux premières semaines suivant le sondage (**Berche *et al.*, 1991**).

I.3.5.2. Infections post-opératoires

Les infections provoquées par l'acte opératoire représentent près de 20% des infections nosocomiales. On distingue pour cette catégorie les infections de la plaie opératoire (plutôt superficielle à l'origine) et les infections profondes touchant les organes. Certaines interventions chirurgicales sont dites propres, car le risque infectieux est minimum du fait de l'absence d'exposition avec la microflore endogène respiratoire et digestive (chirurgie orthopédique, neurochirurgie, interventions pour hernies...). Dans ces cas, les infections post-opératoires sont rares (< 2%) et liées à des germes de l'environnement transmis par les manipulations ou l'air. En revanche, d'autres interventions exposent directement les opérés à leur microflore digestive, respiratoire ou génitale. Le taux d'infections post-opératoires atteint alors souvent 10 à 20% en l'absence d'antibioprophylaxie (**Berche *et al.*, 1991 ; Ducel *et al.*, 2002**).

I.3.5.3. Infections respiratoires

Ces infections sont surtout observées dans les unités de réanimation ou de soins intensifs. Représentant près de 15% des infections nosocomiales, les pneumonies nosocomiales se distinguent des localisations précédemment citées par la forte mortalité qu'elles entraînent. Cela est lié à plusieurs facteurs (**Berche *et al.*, 1991**):

- La nature des bactéries rencontrées, dont certaines sont particulièrement résistantes aux antibiotiques et virulentes chez ces malades ;
- La localisation pulmonaire avec nécrose hémorragique qui rend plus difficile l'expression des défenses anti-infectieuses, et l'action bactéricide des antibiotiques dans les foyers infectieux ;
- La grande fragilité des malades chez lesquels ces infections surviennent.

I.3.5.4. Autres localisations infectieuses

De très nombreuses autres localisations infectieuses sont possibles. On peut citer notamment les infections du système nerveux central (méningites d'inoculation ou post-opératoires, abcès cérébraux), de la peau (escarres infectées, abcès sous cutanés ou musculaires après injections), du tube digestif (diarrhées épidémiques à salmonelles ou *Escherichia coli* entéropathogènes), des voies génitales après instrumentation ou interruption de grossesse, des régions buccale et périnéale (au cours de leucémies en aplasie) (**Berche *et al.*, 1991**).

I.3.5.5. Bactériémies nosocomiales

Les bactériémies ne représentent qu'une faible proportion des infections nosocomiales mais possèdent un taux de létalité élevé (**OMS, 2002**). Ces infections sont rarement d'apparence spontanée, surtout observées chez les malades en aplasie. Le point de départ de l'infection est probablement digestif, à la suite de lésions de la muqueuse digestive liées à la chimiothérapie ou d'infections buccales ou périnéales mineures. Cependant, la plupart des bactériémies nosocomiales sont secondaires à un foyer infectieux localisé, en particulier respiratoire, ou à un cathétérisme vasculaire (**Berche *et al.*, 1991**).

Les cathéters sont habituellement infectés par la flore cutanée à la suite d'une colonisation progressive provenant du site de pénétration cutanée. Il est plus rare qu'il s'agisse d'une faute de manipulation ou de la perfusion d'un soluté contaminé au moment de la pose du cathéter. Les risques d'infection sur cathéters sont augmentés par l'existence d'une affection cutanée préalable (brûlure, psoriasis, dermatoses), d'une flore cutanée opportuniste (bacilles à Gram négatif), d'une infection à distance ou d'un état d'immunosuppression grave. De plus, la technique de la pose et la localisation du cathéter jouent un rôle important sur la fréquence des infections (**Berche *et al.*, 1991**).

I.3.6. Taux de prévalence

Les infections nosocomiales sont connues dans le monde entier et touchent aussi bien les pays en développement que les pays développés (**Tableau 3**). Dans ces derniers, les infections nosocomiales touchent 5 à 10 % des patients (**OMS, 2017**). La prévalence de ces infections est de 4,5 % aux USA, 10,5 % au Canada, 6,7 % en France et 6,2 % en Belgique (**Vrijens *et al.*, 2008 ; OMS, 2009**).

Dans certains pays en développement, la proportion de patients souffrant d'une infection nosocomiale peut dépasser 25% (**OMS, 2017**). La prévalence de ces infections est de 19,1% en Albanie ; 14,0% au Brésil ; 14,8 % en Tanzanie ; 18.7% au Mali ; 17,8 % en Tunisie et 17.8% au Maroc (**OMS, 2009**).

En Algérie, l'enquête de prévalence des infections nosocomiales réalisée en 1998 a montré un taux global de prévalence de 13,7%. Selon l'enquête réalisée par la tutelle en 2005, le taux de prévalence des infections nosocomiales varie entre 7 et 14%. A cette occasion, le Dr.Tarfani Youcef, sous-directeur de la prévention hospitalière au ministère de la Santé, a signalé que ce taux est deux fois plus important que celui enregistré en France et évalué à 7% (**Addoubiani, 2008**).

En 2012, une autre enquête a été réalisée et qui a révélé un taux de prévalence national variant de 12 à 15 %. Un peu plus tard, en 2013, le professeur Soukhal Abdelkrim, chef de service au C.H.U de Beni Messous, déclare à la presse que le taux de ces infections est en état d'aggravation, passant de 15 à 18 % (**Kourta, 2013**).

En 2016, selon l'enquête nationale de prévalence des infections associées aux soins, les infections nosocomiales constituent un problème de santé publique en Algérie avec un taux de prévalence national de l'ordre de 14% (**Maalem, 2016**).

Tableau 3. Résumé des pathogènes les plus fréquemment isolés dans les infections nosocomiales, selon le type d'infection et la région (**Hidron et al., 2008 ; ECDC, 2010 ; Allegranzi et al., 2011 ; OMS, 2011 ; Wagenlehner et al., 2011**).

	Pays industrialisés						Pays en voie de développement		
	Europe			USA					
	N (isolats)	Pathogènes	%	N (isolats)	Pathogènes	%	N (isolats)	Pathogènes	%
Ensemble des infections nosocomiales	42 247	<i>Enterobacteriaceae</i>	30.7%	33 848	<i>Staphylococcus spp</i>	29.8%	1 269	<i>Staphylococcus spp</i>	32.0%
		<i>Staphylococcus spp</i>	23.1%		<i>Enterobacteriaceae</i>	21.3%		<i>Enterobacteriaceae</i>	27.0%
		<i>Pseudomonas spp</i>	11.5%		<i>Enterococcus spp</i>	21.1 %		<i>Pseudomonas spp</i>	17.0%
Infections urinaires	1 710	<i>Enterobacteriaceae</i>	63.3%	1 466	<i>Enterobacteriaceae</i>	68.0%	531	<i>Enterobacteriaceae</i>	85.0%
		<i>Enterococcus spp</i>	13.3%		<i>Enterococcus spp</i>	16.0%		<i>Pseudomonas spp</i>	6.0%
		<i>Pseudomonas spp</i>	9.0%		<i>Pseudomonas spp</i>	7.0%		<i>Enterococcus spp</i>	4.0%
Infections du site opératoire		Non renseigné		7025	<i>Staphylococcus spp</i>	43.7%	1078	<i>Enterobacteriaceae</i>	44.2%
					<i>Enterobacteriaceae</i>	35.6%		<i>Staphylococcus spp</i>	26.5%
					<i>Enterococcus spp</i>	11.2%		<i>Pseudomonas spp</i>	16.7%
Infections pulmonaires	10538	<i>Enterobacteriaceae</i>	31.8%		Non renseigné		459	<i>Pseudomonas spp</i>	29.0%
		<i>Staphylococcus spp</i>	18.7%					<i>Acinetobacter spp</i>	24.0%
		<i>Pseudomonas spp</i>	18.2%					<i>Enterobacteriaceae</i>	21.0%
Septicémies	4315	<i>Staphylococcus spp</i>	39.4%	11 428	<i>Staphylococcus spp</i>	44.0%	825	<i>Staphylococcus spp</i>	36.0%
		<i>Enterobacteriaceae</i>	23.4%		<i>Enterococcus spp</i>	16.0%		<i>Acinetobacter spp</i>	18.0%
		<i>Pseudomonas spp</i>	7.9%		<i>Enterobacteriaceae</i>	12.4%		<i>Enterobacteriaceae</i>	18.0%
					<i>Candida spp</i>	11.8%			

I.3.7. Impacts

Les infections nosocomiales représentent une charge importante pour le patient comme pour la santé publique. Elles ajoutent à l'incapacité fonctionnelle et au stress psychologique du patient et peuvent dans certains cas conduire à des affections invalidantes qui réduisent la qualité de vie. Ces infections contractées en milieu médical figurent parmi les causes majeures de décès et de morbidité accrue parmi les patients **(OMS, 2002)**. Dans les pays développés, elles constituent l'une de dix principales causes de mortalité. Par contre, dans les pays en développement, on estime que ces infections constituent la troisième cause la plus fréquente de la mortalité **(Samou Fotso, 2005 ; Rebaudet *et al.*, 2007)**.

L'impact économique de ces infections est également non négligeable. En effet, les coûts directs associés à une durée de prise en charge plus longue, facilement évaluables et les coûts indirects, plus difficiles à estimer. Ces derniers prennent en compte le nombre de jours non travaillés par les patients, pendant l'hospitalisation et la convalescence, ou les soins ultérieurs qui pourraient être nécessaires **(Monnet, 2011)**.

Les médicaments supplémentaires, les impératifs d'isolement et la nécessité d'examen de laboratoire et de tests diagnostiques complémentaires ajoutent également aux coûts. Les agents pathogènes responsables de ces infections peuvent se propager dans la communauté par le biais des patients sortis de l'hôpital, des membres du personnel hospitalier et des visiteurs. Ils risquent en cas de multirésistances, de provoquer une morbidité importante dans la communauté **(OMS, 2002)**.

I.3.8. Résistances aux antibiotiques

Pendant longtemps les infections nosocomiales ont été facilement maîtrisables grâce notamment aux antibiotiques et aux antiseptiques. Aujourd'hui, elles posent un problème par leur fréquence et leur sévérité, notamment liées au développement de phénomènes de résistances des micro-organismes. La pression de sélection, qui est à la base de l'émergence de ces résistances, est en effet plus forte au sein des hôpitaux. La prévalence des résistances diffère selon les pathogènes **(Monnet, 2011)**.

Chez les bactéries à Gram positif, on retrouve les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM), les Enterococci résistants à la vancomycine (ERV) ou encore les *Streptococcus pneumoniae* non-sensibles à la pénicilline (SPNP) **(ECDC, 2008)**. A noter également les forts taux de résistance chez *Clostridium difficile* **(Barbut *et al.*, 2007)**.

Du côté des bactéries à Gram négatif, en plus du fort taux de résistances par la production de β -lactamase à spectre étendu (BLSE), le nombre de souches d'*Escherichia coli*

résistantes aux fluoroquinolones est important et en augmentation, ce qui complique la prise en charge des infections urinaires, causées majoritairement par ce pathogène. Les souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes sont de plus en plus fréquentes, et environ 1/5 des souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont résistantes à au moins trois classes d'antibiotiques (ECDC, 2008). Enfin, la bactérie *Acinetobacter baumannii* est l'une des bactéries les plus résistantes aux antibiotiques (Peleg *et al.*, 2008).

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

Objectif du travail

L'objectif principal de la présente étude consiste à l'isolement des souches de cyanobactéries ayant un effet antagoniste vis-à-vis de bactéries d'infections nosocomiales à partir de certains écosystèmes aquatiques algériens. Les différentes démarches entreprises pour atteindre l'objectif fixé sont récapitulées comme suit :

- Isolement d'une large gamme de cyanobactéries à partir d'échantillons provenant de différents écosystèmes ;
- Caractérisation phénotypique et étude de la phytochimie des isolats de cyanobactéries ;
- Isolement et identification des bactéries nosocomiales à partir de patients hospitalisés ;
- Evaluation de l'activité des substances intracellulaires et extracellulaires des isolats sur des bactéries nosocomiales ayant développé des résistances aux antibiotiques ;
- Identification moléculaire des souches de cyanobactéries ayant montré une bonne activité antibactérienne.

Les différentes parties sont élaborées au niveau du laboratoire de recherche Microbiologie Moléculaire, Protéomique et Santé de l'Université Djillali Liabès de Sidi Bel-Abbès, laboratoire de recherche VALCOR (Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques) de l'Université M'hamed Bougara de Boumerdès, laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire d'Oran et au niveau de la firme DIAG-GENE, Angers, France.

II.1. Présentation des sites de prélèvement

II.1.1. Bassin versant de l'oued Mekerra

Le bassin versant de l'oued Mekerra (latitude 34° 26' 04" N, longitude 0° 48' 21" O) est situé au Nord-Ouest du territoire Algérien dont la grande partie du bassin existe dans la wilaya de Sidi Bel-Abbès (**Figure 9**). Le bassin est limité au Nord par la chaîne montagneuse de Tessala, au Sud par les hauts plateaux de Ras El Maa, à l'Est par le plateau de Télagh et les Monts de Saïda et à l'Ouest par les monts de Tlemcen.

Le bassin versant de l'oued Mekerra est un sous bassin de la Mecta. Le cours d'eau principal est l'oued Mekerra (**Figure 10**). Ce dernier prend son origine au sud de Ras El Maa dans les hautes vallées de la steppe à 1250 m d'altitude. D'une longueur de 125 km et une pente moyenne de 5,5 %, ce cours d'eau draine une superficie d'environ 3000 km².

Le bassin d'alimentation de la Mekerra est un résultat de drainage de plusieurs petits cours d'eau et affluents. Au Sud les oueds El Kheoua, Sekhana, El-Lellelah, Ras El Ouiden et Farat Ezziét. Au Sud-Ouest les oueds Et-Touifza, Tadjmout et M'Zi et au Nord-Ouest les

oueds Lemtar, Boukhenafis Anefress et Tissaf. Tous ces oueds viennent se jeter dans l'oued Mekerra.

Le bassin versant de l'oued Mekerra se situe sous l'influence d'un climat méditerranéen semi-aride qui se caractérise par un été chaud et sec, et un hiver relativement doux et humide (Yahiaoui, 2012). Dans ce travail, l'oued Mekerra a été choisi pour sa richesse en éléments nutritifs tels que les nitrates et les phosphates qui proviennent des activités humaines industrielles et agricoles ainsi que les rejets urbains.



Figure 9. Situation géographique de l'oued Mekerra (Google Maps, 2017).



Figure 10. Présentation du site de prélèvement « l'oued Mekerra ».

II.1.2. Cascades d'El Ourit

Les cascades d'El Ourit (latitude 34° 53' 24" N, longitude 1° 19' 12" O) sont situées dans une zone montagneuse à 7 km de la ville de Tlemcen, elles font partie du Parc national de Tlemcen créé en 1993 (**Figure 11**). Ces cascades font suite aux escarpements roses et rouges de l'oued Mefrouch. Les gorges d'El-Ourit déversent, en aval du barrage du Mefrouche, leurs eaux d'une hauteur d'environ 68 m, engendrant de merveilleuses chutes (**Figure 12**) (**Berriah, 2013**). Dans la présente étude, les cascades d'El Ourit ont été choisies en raison de la couleur de l'eau (bleu-vert) car les cyanobactéries peuvent modifier la couleur des eaux où elles prolifèrent.



Figure 11. Situation géographique des cascades d'El Ourit (**Google Maps, 2017**).



Figure 12. Présentation du site de prélèvement « cascades d'El Ourit ».

II.2. Stratégie d'échantillonnage

L'eau renfermant les cyanobactéries a été collectée à partir de deux sites différents (l'oued Mekerra et cascades d'El Ourit) à raison de trois échantillons par site, à la fin du mois de mai 2014. Les prélèvements ont été effectués de façon aseptique dans des flacons en verre stériles d'un volume de 250 mL. Ces flacons sont obturés par la suite hermétiquement jusqu'à leurs apports au laboratoire où ils ont été bouchés dans des conditions stériles par des cocons confectionnés à partir du coton et des gazes (permettant les échanges gazeux) pour maintenir la biodiversité initiale.

Dès que l'échantillon est prélevé, chaque flacon est muni d'une étiquette sur laquelle sont notés la date, l'heure, ainsi que le nom du site de prélèvement ; puis transporter dans une glacière au frais et à l'obscurité, ce qui permet d'assurer une conservation satisfaisante. Les analyses ont été effectuées au plus tard dans les 24 heures qui suivent les prélèvements.

Les paramètres physiques des eaux (température, pH et conductivité électrique) ont été mesurés *in situ* au moment du prélèvement. La température (°C) a été mesurée à l'aide d'un thermomètre à mercure, le pH à l'aide d'un pH mètre de terrain (HANNA HI9126) et la conductivité électrique ($\mu\text{S}/\text{cm}$) à l'aide d'un conductimètre de terrain (HANNA HI99301) ; ces analyses renseignent sur les conditions naturelles des isolats.

II.3. Isolement, reconnaissance, purification et conservation des cyanobactéries

Les échantillons d'eau étudiés contiennent souvent une flore microbienne et algale variée dont de multiples représentants incommode l'isolement des cyanobactéries. C'est le cas de champignons ou des bactéries à développement rapide, en plus des autres classes du phytoplancton. Dans ce travail, l'isolement des cyanobactéries a été fait en utilisant des milieux de culture synthétiques : **BG11** et **BG11₀** (Stanier *et al.*, 1971 ; Rippka, 1988).

II.3.1. Préparation du milieu de culture

La préparation d'un milieu simple spécifique aux cyanobactéries (**BG11**) est référée à la méthode de Stanier *et al.* (1971). Le milieu renferme du CO_2 comme source de carbone (souvent sous forme de carbonate de soude), du nitrate ou de l'ammoniac comme source d'azote, du sulfate, du phosphate et une série des minéraux (**Annexe 1**). Le milieu solide est préparé par l'addition de l'agar pur à mesure de 1% après l'ajustement du pH vers 7,1.

Le milieu **BG11₀** est un milieu dépourvu de nutriments azotés. Ce milieu est exclusivement utilisé pour l'isolement des cyanobactéries hétérocystées qui, grâce à leur faculté à fixer l'azote atmosphérique, peuvent plus facilement dominer les autres algues.

Sa composition est identique à celle du milieu BG11 mais sans source d'azote ajoutée (NaNO_3).

II.3.2. Techniques d'ensemencement et conditions d'incubation

Deux méthodes ont été utilisées pour isoler les cyanobactéries à partir des échantillons d'eau (**Figure 13**). La première est celle des suspensions-dilutions décrite par **Roger et Reynaud (1977)**. La technique consiste à préparer pour chaque échantillon des dilutions décimales dans 9mL d'eau physiologique stérile allant jusqu'à 10^{-4} , et étaler par la suite des aliquotes de 0,1 mL de chaque dilution sur la surface du milieu d'isolement préalablement coulé dans des boîtes de Pétri stériles. La seconde méthode est celle de filtration donnée par **Ferris et Hirsch (1991)**. Elle consiste à diluer des aliquotes de chaque échantillon d'eau dans 100 mL d'eau physiologique stérile, puis filtrer à travers des membranes en polycarbonate de porosité $0,4\ \mu\text{m}$, et à déposer ces dernières sur la surface du milieu d'isolement préalablement coulé dans des boîtes de Pétri stériles.

Trois répétitions pour chaque essai ont été effectuées. Afin d'éviter la déshydratation de la gélose, et/ou une éventuelle contamination des cultures, les boîtes de Pétri sont entourées de rubans de parafilm.

Les boîtes ont été incubées à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ sous une lampe de flux lumineux compris entre 3-4 Klux en fonction d'une photopériode de 16/8 heures pendant plusieurs semaines. La prolifération des cyanobactéries n'étant pas rapide, la lecture se fait après 7 jours d'incubation puis tous les jours jusqu'à 3 à 4 semaines.

II.3.3. Culture et repiquage (obtention de cultures unialgales)

Toutes les colonies qui apparaissent sont systématiquement observées au microscope optique (modèle Optech Optical Technology), afin de sélectionner celles qui correspondent micromorphologiquement aux cyanobactéries. Les colonies des cyanobactéries obtenues subissent des repiquages successifs en se référant à **Roger et Reynaud (1977)**. La méthode consiste à découper les morceaux de gélose renfermant les cyanobactéries et réensemencer sur une autre boîte de Pétri après avoir observé les colonies ou les filaments de cyanobactéries sous loupe binoculaire (modèle Nahita). L'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'isolement de la colonie (**Figure 13**).

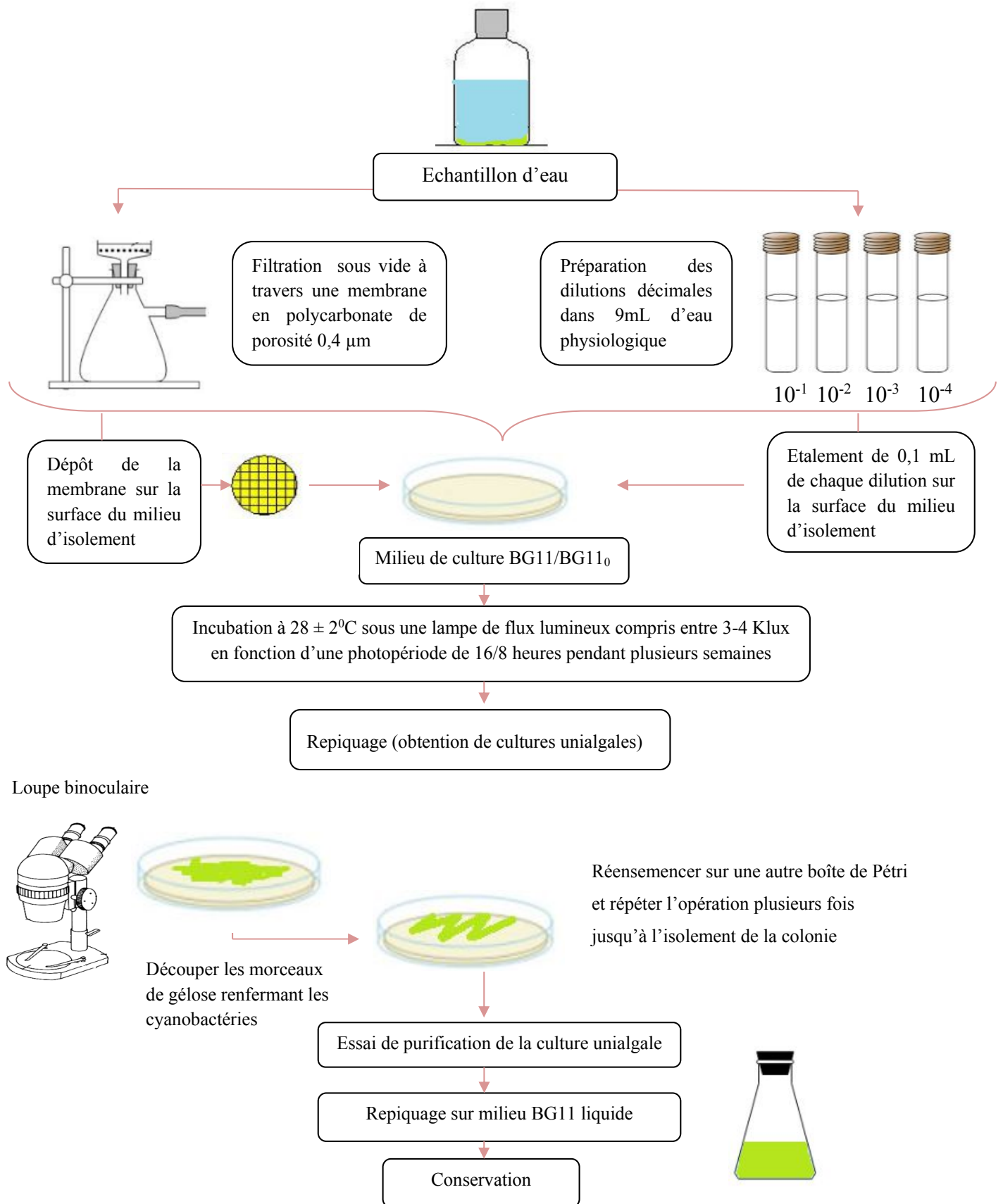


Figure 13. Protocole expérimental de l'isolement des cyanobactéries à partir de l'échantillon d'eau.

II.3.4. Essai de purification de la culture unialgale

La purification des cyanobactéries est une procédure délicate, longue et très difficile comparée à celle des autres souches bactériennes.

La méthode suivie est celle de dilution par observation à la loupe binoculaire, décrite par **Amarouche-Yala (2015)**. Elle consiste à inoculer un filament ou une colonie, prélevé d'une culture sur BG11, dans une série de trois tubes contenant 20 mL du milieu BG11. Le dernier tube a servi à la culture finale de purification qui est ensuite remis en culture solide.

Afin d'inhiber la croissance des champignons, le milieu de culture est additionné de l'actidione (cycloheximide) à 75 µg/mL (**Rippka, 1988**).

II.3.5. Conservation

Les cyanobactéries sont conservées dans du milieu BG11 liquide et repiquées toutes les 4-6 semaines, sous les mêmes conditions d'incubation décrites antérieurement.

II.4. Identification des isolats de cyanobactéries

L'identification a été essentiellement basée sur l'étude morphologique comprenant l'examen macroscopique et microscopique des colonies isolées.

II.4.1. Examen macroscopique

L'aspect des colonies est très variable selon les espèces (**Roger, 2006**) :

- **Les formes coloniales** : généralement, elles donnent des colonies vertes, irrégulières, plates avec une croissance planaire le long de la surface d'agar et n'ayant pas de forme définissable.
- **Les formes filamenteuses** : les filaments sont réguliers avec une croissance aléatoire, planaire le long de la surface d'agar ou creuse, enfoncée dans l'agar. La couleur des filamenteuses varie entre le vert et le brun marron.

II.4.2. Examen microscopique

Deux examens sont réalisés, l'un direct entre lame et lamelle et l'autre indirect après coloration de Gram.

- **Examen microscopique après coloration de Gram** : la technique classique de la coloration de Gram est réalisée pour l'ensemble des isolats de cyanobactéries.
- **Examen direct à l'état frais** : l'examen microscopique à l'état frais des isolats de cyanobactéries est réalisé entre lame et lamelle par l'observation sous microscope optique à l'objectif 40 et 100. Les critères retenus sont ceux donnés par **Bourrelly (1985)**, **Komárek et Anagnostidis (1986, 1989, 1998, 2005)**, et **Anagnostidis et Komárek (1988, 1990)** :

- L'organisation cellulaire (filamenteuse, coloniale, cellule isolée) et sa forme;
- Les types cellulaires rencontrés (cellules végétatives, hétérocytes, akinètes), leur forme (sphérique, cylindrique, ellipsoïdale...) et leur position;
- Les dimensions des cellules et leur contenu (vacuoles à gaz, granules...);
- La présence ou l'absence d'une gaine et ses caractéristiques (couleur, visibilité...);
- La présence ou l'absence de vraies ou de fausses ramifications;
- Modes de reproduction (fragmentation, hormogonie mobile ou non, nécridies...).

A l'aide d'un microscope Carl Zeiss model (Axiostar plus) doté d'une caméra uEye32 numérique (**Annexe 2**), des photos et des mensurations des différents isolats identifiés ont été prises.

II.5. Estimation des pigments photosynthétiques

II.5.1. Dosage de la chlorophylle *a*

Le protocole du dosage de la chlorophylle *a* est celui préconisé par **Vishwanath et Rajashekhar (2015)**. Il est basé principalement sur l'extraction et la dissolution du pigment photosynthétique représenté par la chlorophylle *a* dans un solvant approprié (acétone à 90%).

Pour cela, un volume de chaque culture de cyanobactéries sur milieu BG11 a été prélevé puis centrifugé (Centrifugeuse Hettich Rotina 380) 4000xg pendant 5min. Pour chaque isolat, la biomasse récoltée a été lavée avec de l'eau distillée stérile puis additionnée à 10 mL de l'acétone 90%. Le mélange a été homogénéisé puis conservé à l'obscurité pendant 24h au réfrigérateur, de façon à permettre l'extraction de la chlorophylle.

L'extrait a été centrifugé et la chlorophylle *a* a été mesurée dans le surnageant au spectrophotomètre (modèle Optizen 2120 UV) à 664, 647 et 630 nm. La concentration en µg/mL de la chlorophylle *a* est estimée par l'équation donnée par **Jeffrey et Humphrey (1975)** :

$$[\text{Chlo} - a](\mu\text{g/mL}) = (11,85 \cdot A_{664}) - (1,54 \cdot A_{647}) - (0,08 \cdot A_{630})$$

A : Absorbance.

II.5.2. Dosage des phycobiliprotéines

Les phycobiliprotéines ont été isolés selon la méthode de **Boussiba et Richmond (1979)**. Un volume de 10 mL de chaque culture de cyanobactéries sur milieu BG11 a été prélevé puis centrifugé (Centrifugeuse Hettich Rotina 380). Pour chaque isolat, la biomasse récoltée a été lavée avec de l'eau distillée stérile puis additionnée à 2 mL de solution tampon

phosphate 0.05M (pH=6.8) (**Annexe 3**). Le mélange a été homogénéisé puis congelé à -20°C et décongelé à température ambiante de manière répétitive.

L'extrait a été centrifugé et l'absorbance du surnageant a été mesurée à des longueurs d'ondes de 562, 615 et 652 nm pour la phycoérythrine (PE), la C-phyco cyanine (C-PC) et l'allophycocyanine (APC) respectivement. Les concentrations en phycobiliprotéines (mg/mL) ont été déterminées selon les équations suivantes (**Bennett et Bogorad, 1973**) :

$$[C - PC](\text{mg/mL}) = \frac{A_{615} - (0,474 \cdot A_{652})}{5,34}$$

$$[APC](\text{mg/mL}) = \frac{A_{652} - (0,208 \cdot A_{615})}{5,09}$$

$$[PE](\text{mg/mL}) = \frac{A_{562} - (2,41 [C - PC]) - (0,849 [APC])}{9,62}$$

A: Absorbance.

II.6. Screening phytochimique

La phytochimie qualitative, basée sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques, a été réalisée sur les extraits obtenus à partir de la poudre de chaque isolat de cyanobactérie afin d'établir la présence ou l'absence de métabolites secondaires dans les isolats. Pour cela, un volume de chaque culture de cyanobactéries sur milieu BG11 a été prélevé puis centrifugé (Centrifugeuse Hettich Rotina 380). Pour chaque isolat, la biomasse récoltée a été lavée avec de l'eau distillée stérile, séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant quelques jours, puis broyée en poudre très fine. Le protocole adopté pour obtenir l'extrait est celui de **El Semary et Abd El Naby (2010)**, qui consiste à macérer 0.1g de poudre dans 5 mL d'éthanol 80% à 4°C pendant 48h puis filtrer sur papier filtre. L'extrait récupéré est conservé pour procéder aux essais.

II.6.1. Test des tannins (Claus, 1956)

Les tanins sont mis en évidence à partir de 2 mL de l'extrait placé dans un tube en présence de 2 mL de l'eau distillée suivie d'une filtration. Un test positif se traduit par le développement d'une couleur verte jaunâtre après l'ajout de 1 mL de chlorure ferrique (FeCl₃) à 5% au filtrat.

II.6.2. Test des flavonoïdes (Scholz et Liebezeit, 2006)

La révélation des flavonoïdes est basée sur le développement d'une couleur rose dans 1 à 2 min après l'ajout d'un petit morceau de ruban de magnésium et quelques gouttes de Hcl concentré à l'extrait.

II.6.3. Test des alcaloïdes (Sanjeet *et al.*, 2010)

Ces métabolites sont révélés par l'apparition d'un précipité brun rougeâtre après l'ajout de quelques gouttes du réactif de Wagner (**Annexe 3**) à l'extrait.

II.6.4. Test des terpénoides (Sanjeet *et al.*, 2010)

Pour la détection des terpénoides, 1 mL de l'extrait est traité avec 400µL de chloroforme, puis quelques gouttes de l'acide sulfurique concentré sont ajoutées. Un test positif se traduit par l'apparition d'une interface brune-rougeâtre.

II.6.5. Test des stéroïdes (Sanjeet *et al.*, 2010)

Pour ce test, 100µL de l'extrait sont traités avec 400µL d'anhydride acétique, puis quelques gouttes de l'acide sulfurique concentré sont ajoutées. La formation d'un cycle brun indique la présence des stéroïdes.

II.6.6. Test des saponosides (Scholz et Liebezeit, 2006)

Pour la détection des saponosides, 1mL de l'eau distillée est ajouté à 2 mL de l'extrait. Le mélange est filtré et le filtrat est vigoureusement secoué. Un test positif se traduit par le développement d'une mousse stable pendant 30 min.

II.7. Diagnostic bactériologique des infections nosocomiales

Le diagnostic bactériologique repose principalement sur l'isolement de l'agent pathogène responsable et son identification. Les souches bactériennes d'infections nosocomiales sont isolées des patients hospitalisés au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire d'Oran dans différents services (**Tableau 4**). Tous les malades hospitalisés pendant plus de 48 heures ont été inclus dans cette étude. La collecte des souches s'est étendue sur environ 03 mois (de décembre 2014 à février 2015).

Tableau 4. Origines des prélèvements.

N°	Nature de prélèvement	Service
1013	PDP (Prélèvement Distal Protégé)	Réanimation
4127	Urine	Médecine interne
200	Urine	Infectiologie
105	PDP (Prélèvement Distal Protégé)	Réanimation
385	Sang	Réanimation
328	Urine	Rééducation
84	Pus (Site cutané superficiel)	Médecine interne
455	Urine	Réanimation
537	Sonde urinaire	Urgence
190	PDP (Prélèvement Distal Protégé)	Réanimation
362	PDP (Prélèvement Distal Protégé)	Réanimation
496	Urine	Rééducation
499	Urine	Médecine interne
920	Pus	Urgence
222	Aspiration bronchique	Réanimation
2104	Urine	Hémodialyse
2195	Urine	Médecine interne
377	Sang	Urgence
2544	Urine	Urgence

II.7.1. Isolement des souches bactériennes

Tous les prélèvements sont réalisés à des fins diagnostiques. Pour chaque site, la nature de l'examen réalisé est indiquée entre parenthèses. Les sites sont les suivants :

- Le sang (hémoculture).
- L'urine (examen cytbactériologique des urines).
- La sonde urinaire (analyse bactériologique après ablation de la sonde).
- Le site broncho-pulmonaire (examen cytbactériologique des sécrétions broncho-pulmonaires).
- Le pus (examen cytbactériologique des pus).

Vue la diversité des échantillons, la mise en culture nécessite l'utilisation de milieux spécifiques et l'incubation dans différentes atmosphères (aérobie, anaérobie CO₂) : gélose au sang cuit sous CO₂, gélose au sang frais, Hektoen et gélose nutritive. L'incubation a été faite à 37°C pendant 24h.

II.7.2. Identification des souches isolées

L'identification des souches isolées a été faite en trois étapes :

- Analyse des caractères macroscopiques;
- Analyse des caractères microscopiques (coloration de Gram, forme des germes) ;
- Analyse des caractères biochimiques (API 20 E, API 20 NE, réactif approprié).

Les résultats ont été confirmés par MicroScan WalkAway System (Siemens).

II.7.2.1. Identification morphologique

II.7.2.1.1. Aspect macroscopique

Les caractères recherchés sont : l'aspect des colonies (grandes, petites, plates, concaves, muqueuses...), l'hémolyse sur la gélose et l'acidification des sucres pour les entérobactéries.

II.7.2.1.2. Aspect microscopique

L'aspect microscopique des bactéries a été révélé par le biais de la coloration de Gram. Cette dernière permet de différencier la paroi bactérienne et de scinder les bactéries en « Gram positif » et « Gram négatif ». La coloration de Gram a été réalisée par un automate PREVI® COLOR GRAM dont le principe est le même de celui de la coloration de Gram manuelle ; l'observation est faite sous microscope Gx100, à pleine lumière. Les bactéries dites « Gram négatif » apparaissent roses tandis que les bactéries dites « Gram positif » sont colorées en bleu foncé/violet.

II.7.2.2. Identification biochimique

II.7.2.2.1. Recherche de la catalase

La catalase (Ferroporphyrine de poids moléculaire élevé) a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène. C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne (**Garnier et Denis, 2007**). Ainsi, une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) est déposée sur une lame propre et sèche, et à l'aide d'une pipette Pasteur, une colonie bien distincte prélevée d'une culture jeune de 24h est plongée dans la goutte d' H_2O_2 . Le dégagement immédiat de bulles d'oxygène exprime la présence d'une catalase.

II.7.2.2.2. Recherche de l'oxydase

Le test de l'oxydase est basé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire. En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif phénylènediamine, pour former un composé coloré en violet, l'indophénol (**Delarras, 2014**). Pour cela, une goutte de la solution N-diméthyl paraphénylène diamine est déposée sur un papier filtre, puis une colonie bactérienne est étalée sur le même papier.

Après 30 secondes, l'apparition d'une couleur bleu violacée indique la présence de l'oxydase.

II.7.2.2.3. Identification par galeries biochimiques

Le système API® BioMérieux (Appareillage et Procédé d'Identification) a été utilisé pour cette étude. Ce système est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Les galeries utilisées sont API 20 E et API 20 NE. Le test consiste à :

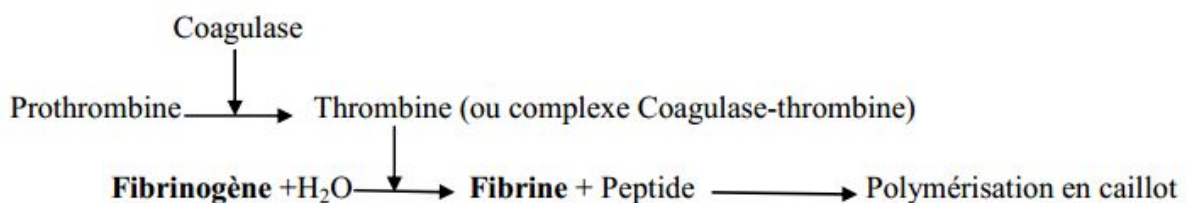
- Préparer une suspension bactérienne ayant une concentration de 0,5 Mc Farland à partir d'une culture pure de 18 à 24h ;
- Déposer soigneusement quelques gouttes de la suspension bactérienne dans chaque cupule à l'aide d'une seringue stérile ;
- Ajouter de l'huile de vaseline dans les cupules là où les noms des tests sont soulignés, et remplir jusqu'au bout celles dont les noms sont encadrés avec la suspension bactérienne ;
- Incuber les galeries pendant 24h à 30°C pour les non-entérobactéries et à 37 °C pour les entérobactéries.

Les réactions se traduisent par le changement de couleur spontané ou par l'addition des réactifs spécifiques. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique.

II.7.2.3. Tests spécifiques

II.7.2.3.1. Recherche de la coagulase (la staphylocoagulase)

La propriété de *Staphylococcus aureus* de provoquer la coagulation d'un plasma recueilli sur anticoagulant est un critère important de son identification. Elle est due à la sécrétion d'une enzyme thermostable ; la staphylocoagulase ou coagulase. La staphylocoagulase agit en liaison avec la prothrombine et en absence de calcium.



Parmi les *Staphylococcus*, pratiquement seul *S. aureus* la possède, certaines souches de *S. aureus* peuvent en être dépourvues (10 à 15 % en milieu hospitalier), la perte de la coagulase étant souvent liée à un traitement antibiotique. Dans l'organisme, l'action de la

coagulase est à l'origine de microcaillots de fibrine à l'intérieur des quels les bactéries peuvent proliférer à l'abri des défenses de l'organisme (**Joffin et Leyral, 2001**). Pour la détection de cette coagulase, le test consiste à :

- Ajouter dans un tube à hémolyse 0.5 mL de plasma de lapin oxalaté et une à deux colonies de *Staphylocoques* ;
- Placer le mélange à l'étuve à 37°C et incuber pendant 24h.

Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum.

II.7.2.3.2. Test d'agglutination pour l'identification de *Staphylococcus aureus*

Staphaurex plus est un test rapide d'agglutination latex pour l'identification des staphylocoques possédant le facteur d'agglutination (la protéine A ou les antigènes de surface) spécifiques du *S.aureus*. Ainsi leur identification repose sur :

- La mise d'une goutte du réactif Staphaurex sur une plaque d'agglutination ;
- Le prélèvement d'une à deux colonies de la culture bactérienne ;
- L'émulsion des colonies pendant 10 secondes.

La présence du *S.aureus* se manifeste par une réaction d'agglutination.

II.7.3. Etude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques (Antibiogramme).

L'antibiogramme est l'examen biologique destiné à mesurer l'interaction entre chacune des molécules antibactériennes utilisables et une souche bactérienne susceptible d'être pathogène, isolée d'un patient. Le résultat contribue à évaluer la sensibilité de la souche bactérienne examinée ou sa résistance, ce qui signifie que la molécule sera probablement active au sens thérapeutique ou le traitement sera un échec (**Scavizzi et al., 2000**).

Ainsi, pour chaque souche isolée un antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton, selon la technique de l'écouvillonnage, recommandée par le Clinical and Laboratory Standards Institute (**CLSI, 2011**) qui consiste à :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (inoculum à 0,5 Mc Farland de turbidité) ;
- L'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube pour le décharger ;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche de haut en bas, en stries serrées ;
- Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même ;
- Recharger l'écouvillon pour chaque boîte de Pétri ;

- Déposer les disques d'antibiotiques à tester ;
- Incuber les boîtes à 37°C pendant 18 à 24h.

Au total 23 antibiotiques ont été testés : ampicilline (10µg), pénicilline (6µg), amoxicilline / acide clavulanique (20/10µg), oxacilline (01µg), ticarcilline (75µg), ticarcilline / acide clavulanique (75/10µg), pipéracilline (100µg), imipénème (10µg), aztreonam (30µg), céfazoline (30µg), céfotaxime (30µg), ceftazidime (30µg), céfoxitine (30µg), amikacine (30µg), gentamicine (10µg), tobramycine (10µg), Triméthoprim / Sulfaméthoxazole (23/75µg), ciprofloxacine (5 µg), tétracycline (30 µg), colistine (10 µg), vancomycine (30 µg), rifampicine (30 µg) et fosfomycine (50 µg). Les résultats sont exprimés en mm après lecture des diamètres des zones d'inhibition, et sont interprétés en se référant aux normes (CLSI).

II.7.3.1. Test de synergie

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) constituent un groupe d'enzymes qui ont la propriété commune de conférer la résistance aux pénicillines, à la 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération de céphalosporines, à l'aztréonam (mais non aux céphamycines et carbapénèmes) par hydrolyse de ces antibiotiques, et qui sont inhibées par les inhibiteurs des β -lactamases tel l'acide clavulanique (**Bush *et al.*, 1995**). Le dépistage systématique des souches productrices de BLSE a été assuré par le test de synergie. Ce dernier consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamases et un disque de céphalosporine de troisième génération (ceftazidime, céfotaxime) ou un monobactam (aztréonam). L'image de synergie dite en bouchon de champagne est caractéristique de la présence de BLSE (**Sekhri-Arafa, 2011**).

Selon la technique du (CLSI) de l'antibiogramme, un inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18h des souches d'entérobactéries isolées. La gélose Mueller-Hinton estensemencée selon la méthode préconisée par (CLSI), puis deux disques, l'un contenant l'association amoxicilline/acide clavulanique (AMC) et l'autre céfotaxime (CTX), sont placés à une distance de 3 cm entre le centre des disques sur les boîtes de Pétri. Ces dernières sont incubées pendant 18h à 37°C. La production des enzymes BLSE par les souches d'entérobactéries se traduit par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques d'AMC et CTX.

II.7.3.2. Détection de la résistance des *Staphylococcus aureus* à la méticilline

Une souche est dite résistante à la méticilline, plus communément appelé SARM, lorsqu'elle présente une résistance aux pénicillines du groupe M, et par extension à toutes les β -lactamines (**CASFM, 2010**).

La détection de la résistance des *S. aureus* à la méticilline a été faite par la méthode de diffusion du disque de céfoxitine (30 µg) donnée par **Elhamzaoui *et al.* (2009)**. Cette dernière repose sur l'étude de la sensibilité à la céfoxitine dans les conditions usuelles de l'antibiogramme par diffusion (gélose Mueller-Hinton sans complément). Dans ces conditions, toute souche « sensible » à la céfoxitine (diamètre ≥ 27 mm) doit être classée « SASM », alors que toute souche présentant un diamètre inférieur à 27mm (souche non sensible) doit être considérée comme « SARM ».

II.7.4. Confirmation des résultats par MicroScan WalkAway

L'automate WalkAway de Siemens permet d'identifier de manière globale des germes courants, et de réaliser leurs antibiogrammes en milieu liquide. Cet appareillage utilise des plaques MicroScan conventionnelles renfermant des puits. Chaque puits contient un substrat spécifique déshydraté. Cet appareillage est doté de système expert indispensable pour une lecture interprétative des résultats car fondé sur des bases de données intégrant les phénotypes et les mécanismes de résistance (**Figure 14**). Les étapes à suivre sont :

- Imprimer les codes-barres uniques (n° d'identification du patient + n° d'échantillon + type de plaque utilisé) ;
- Préparer l'inoculum à l'aide d'un système d'inoculation Prompt grâce à une pointe calibrée, afin de standardiser l'inoculum rapidement (5×10^5 CFU/mL : concentration validée pour l'utilisation avec les plaques conventionnelles) ;
- Inoculer et réhydrater les plaques MicroScan conventionnelles à l'aide d'un système Renok ;
- Incuber les plaques dans l'automate et les résultats sont donnés par le logiciel LabPro.

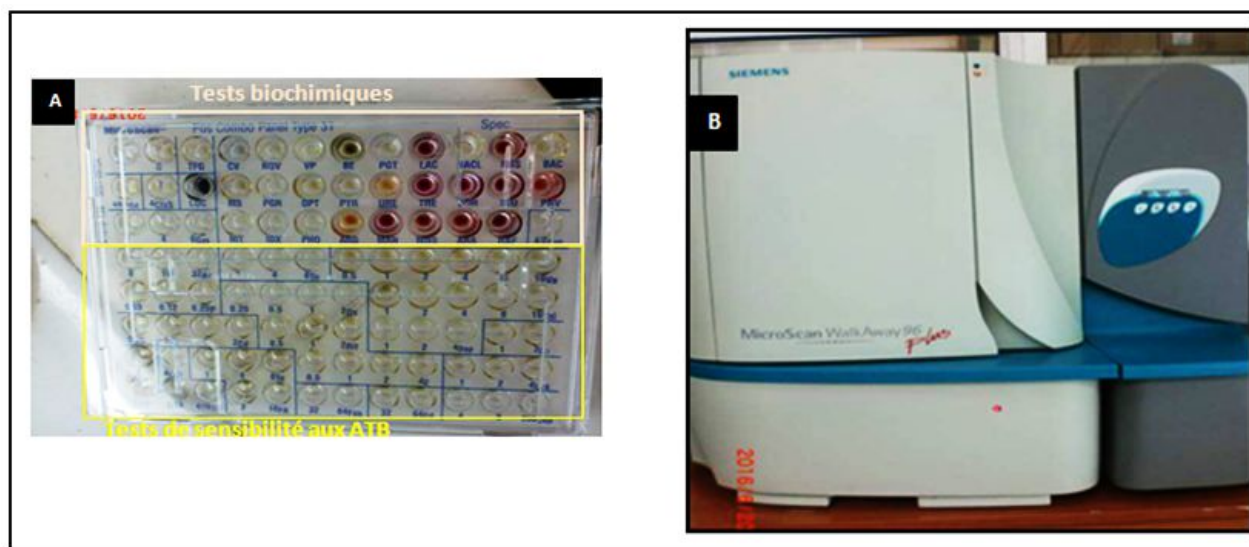


Figure 14. Test d'identification des souches bactériennes nosocomiales.

A) Plaque conventionnelle PC31 (Entérobactéries) ; B) Automate MicroScan WalkAway de Siemens.

II.8. Etude des propriétés antagonistes des isolats de cyanobactéries

II.8.1. Préparation des précultures

Des tubes contenant 3 mL de milieu de culture BG11 stérile sans agar ont été préparés puis ensemencés avec un inoculum provenant des boîtes de cyanobactéries en pleine croissance. Après 7 à 9 jours d'incubation à $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sous une lampe de flux lumineux compris entre 3- 4 Klux en fonction d'une photopériode de 16/8 heure avec agitation manuelle plusieurs fois par semaine, ces cultures ont servi de pré-cultures pour ensemencer des volumes plus importants.

II.8.2. Culture en batch

Des Erlenmeyers (de 500 mL) contenant chacun 250 mL de milieu de culture BG11 ont été ensemencés avec la pré-culture et incubés pendant 4 à 6 semaines dans les mêmes conditions d'incubation des précultures.

Après incubation, la culture de chaque isolat est centrifugée (centrifugeuse SIGMA 3-16KL) à 5000xg pendant 15 min. Le surnageant obtenu est récupéré dans un flacon en verre stérile. Alors que la biomasse est lavée trois fois avec de l'eau distillée stérile, séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant quelques jours, puis broyée en poudre très fine ou bien lyophilisée (lyophilisateur Fisher Bioblock ALPHA 1-2 LD) (**Figure 15**).

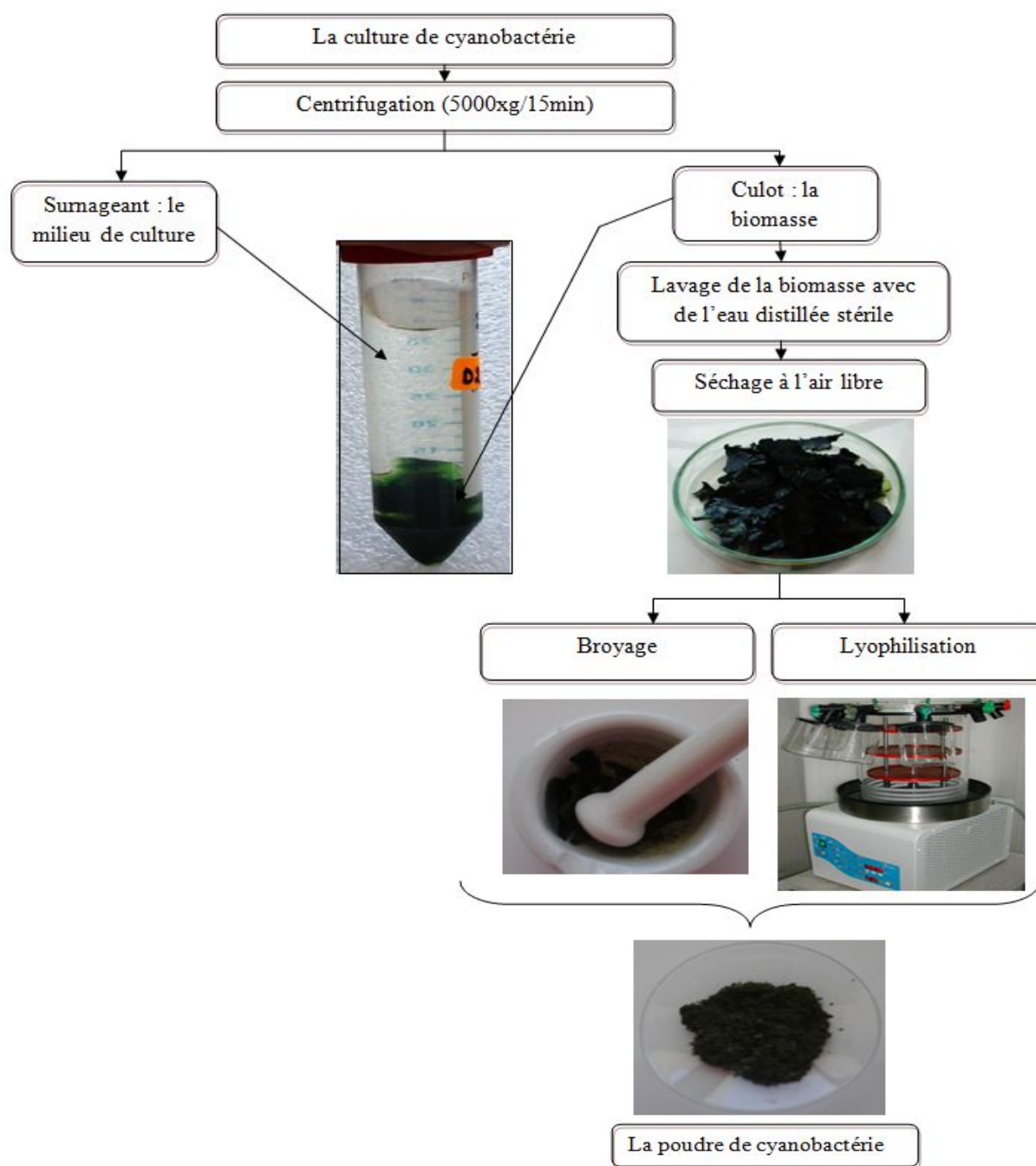


Figure 15. Schéma explicatif des étapes de préparation de la poudre des isolats de cyanobactéries.

II.8.3. Extraction des métabolites bioactifs

Les métabolites bioactifs produits par les isolats de cyanobactéries peuvent être présents au niveau du surnageant de culture ou à l'intérieur de la biomasse. L'extraction des métabolites intracellulaires et extracellulaires a été faite suivant le protocole de **Tuyet (2010)** avec quelques modifications.

II.8.3.1. Extraction à partir de la biomasse (métabolites intracellulaires)

Pour chaque isolat, deux macérations ont été effectuées afin d'extraire les métabolites intracellulaires :

- **Première macération** : dans un Erlenmeyer, 0.5g de la poudre de la biomasse a été macérée dans 25 mL de méthanol. Une homogénéisation par ultrasons (modèle Bandelin Sonorex) pendant 7 minutes suivie d'une agitation magnétique à température ambiante pendant 24h permet d'extraire les métabolites intracellulaires. L'extrait a été séparé du résidu de la biomasse par filtration puis concentré sous vide à 40°C en utilisant un évaporateur rotatif (modèle Stuart RE300DB).
- **Deuxième macération** : le résidu de la biomasse obtenu de la première macération a été séché à température ambiante afin de subir une autre macération dans 25 mL d'eau distillée. L'extrait a été séparé du résidu de la biomasse par filtration puis séché à l'étuve (modèle Memmert) à 40°C.

Les extraits secs sont récupérés dans un minimum de DMSO pour les tester et les rendements des extractions sont calculés avec la formule suivante (**Pharmacopée européenne, 2005**) :

$$R\% = (m - m_0) \times 100 / M_t$$

Avec :

R : rendement exprimé en %.

m : masse du ballon après évaporation.

m₀ : masse du ballon vide.

M_t : masse totale de la poudre utilisée dans l'extraction.

II.8.3.2. Extraction à partir du surnageant (métabolites extracellulaires)

Pour chaque isolat, un volume de 75 mL de surnageant a été mélangé avec un volume égal d'acétate d'éthyle puis agités pendant 24h. La phase organique a été séparée de la phase aqueuse dans une ampoule à décanter puis filtrée par passage à travers un entonnoir contenant un papier filtre (Whatman n°1) et 2 g de sulfate de sodium anhydre afin d'éliminer tous les contaminants hydrophiles. Enfin, l'extrait a été concentré à sec puis récupéré dans un minimum de DMSO.

II.8.3.3. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols sont déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Kahkonen *et al.*, 1999**). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange

d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$). Le principe de la méthode repose sur l'oxydation des polyphénols, entraînant la réduction du réactif Folin-Ciocalteu en un complexe de couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et Charpentier, 2006).

Le test consiste à ajouter un volume de 200 μL de chaque extrait à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (1:10 v/v). Après 4 minutes, 800 μL de carbonate de sodium (7,5 %) sont additionnés au mélange puis incubés à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 765 nm, et la quantité en composés phénoliques totaux est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière algale sèche (mg EAG/g MS), en se référant à une courbe étalon établie avec l'acide gallique.

II.8.4. Pouvoir antibactérien des extraits

L'évaluation de l'activité antimicrobienne est effectuée par diffusion sur gélose selon (CLSI, 2001) cité par Celikbas *et al.* (2007). Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien dans le milieu solide. Les extraits obtenus, à partir des biomasses et des surnageants de cultures, ont été testés contre les souches bactériennes d'infections nosocomiales isolées et identifiées précédemment. La méthode utilisée est celle des disques en papier.

II.8.4.1. Revivification des souches bactériennes

La revivification des souches bactériennes a pour objectif l'obtention d'une culture pure et jeune. Elle est réalisée par la méthode des stries (quatre cadrans) sur des boîtes de Pétri contenant le milieu gélose nutritif solide. Les souches sont alors revivifiées à partir des tubes de conservation, et les cultures sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h.

II.8.4.2. Préparation de l'inoculum

Pour chaque souche bactérienne un inoculum a été préparé par raclage de quelques colonies bien isolées d'une culture de 24h mises en suspension dans de l'eau physiologique stérile de telle manière à obtenir une turbidité équivalente à 0,5 Mc Farland.

II.8.4.3. Préparation des disques

Des disques de papier stériles de 6 mm de diamètre reçoivent 10 μL de chaque extrait et des disques témoins reçoivent 10 μL de DMSO. Après séchage à température ambiante les disques ont été déposés sur les boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller-Hinton préalablement ensemencé par écouvillonnage avec les suspensions bactériennes. Avant l'incubation à 37°C, les boîtes sont laissées 2h à +4°C pour permettre une pré-diffusion des

substances bioactives. La lecture des résultats est réalisée après 24h en mesurant le diamètre d'inhibition.

II.9. Identification moléculaire

L'identification moléculaire a été effectuée pour deux isolats de cyanobactéries présentant un potentiel antibactérien intéressant. La détermination génétique de l'espèce se base sur l'étude des gènes des ARN ribosomiques notamment le gène de l'ARNr 16S. Cette séquence d'ADN très conservée au sein des espèces (plus de 99%) donne un degré de similitude entre deux organismes indiquant ainsi leur parenté relative. La procédure consiste à amplifier le gène, en présence d'une amorce reconnaissant la région sur l'ADN, qui par la suite est séquencé. Les séquences sont comparées avec des bases de données de séquences de nucléotides déjà connues existant dans des banques internationales de données telles que EMBL (European Molecular Biology Laboratory) et GenBank (NCBI : National Center for Biotechnology Information).

II.9.1. Extraction de l'ADN génomique

Les extractions d'ADN génomiques, à partir des souches de cyanobactéries, ont été réalisées à l'aide du kit DNeasy Mini Plant de Qiagen (France). Ce kit combine deux types différents de lyses cellulaires, une lyse mécanique par broyage et une lyse enzymatique. Le kit en question renferme :

- Colonne QIAshredder.
- Colonne DNeasy.
- Tubes de collecte, stériles de 2 mL.
- Solutions tampons en nombre de cinq : AP1 ; AP2 ; AP3/E ; AW et AE.
- Solution de RNase A.

L'extraction de l'ADN à l'aide du kit DNeasy Mini Plant de Qiagen passe par les étapes suivantes (**Figure 16**):

- a. **Lyse cellulaire** qui consiste à broyer la biomasse des cyanobactéries en poudre fine à l'aide d'un mortier en présence d'azote liquide. A 20 mg du poids sec, sont ajoutés 400 μ L de tampon AP1 et 4 μ L de RNase A (100mg/mL), puis vortexer vigoureusement et incubé le mélange 10 min à 65°C.
- b. **Séparation des débris cellulaire** par l'ajout au lysat de 130 μ L de tampon AP2, suivi d'une incubation pendant 5min sur la glace (cette étape permet de précipiter le détergent, les protéines et les polysaccharides). Le lysat est ensuite déposé dans la colonne QIAshredder placée dans un tube collecteur de 2 mL, puis centrifugée pendant 2 min à

vitesse maximale. L'effluent obtenu est transféré dans un nouveau tube, sans entraîner le culot de débris cellulaires.

- c. **Fixation de l'ADN sur la colonne DNeasy** en ajoutant 1,5 volumes de tampon AP3/E au lysat clarifié tout en mélangeant en pipetant. Cette action est suivie par un dépôt de 650 μ L du mélange obtenu dans la colonne DNeasy placée dans un tube collecteur de 2 mL, et une centrifugation pendant 1 min à 6000xg. A la fin de cette étape l'effluent est éliminé.
- d. **Lavage de l'ADN** par 500 μ L de tampon AW, suivi d'une centrifugation pendant 1min à 6000xg. Un deuxième lavage de l'ADN est réalisé par 500 μ L de tampon AW suivi d'une centrifugation pendant 2 min à vitesse maximale afin de sécher la membrane.
- e. **Elution de l'ADN** est assurée par le transfert de la colonne DNeasy dans un tube collecteur de 2 mL et le dépôt au centre de la membrane de 100 μ L de tampon AE préchauffé à 65°C, suivie par une incubation du mélange pendant 5 min à température ambiante, puis une centrifugation pendant 1 min à 6000xg (cette étape permet d'entraîner tout l'ADN au fond du tube).

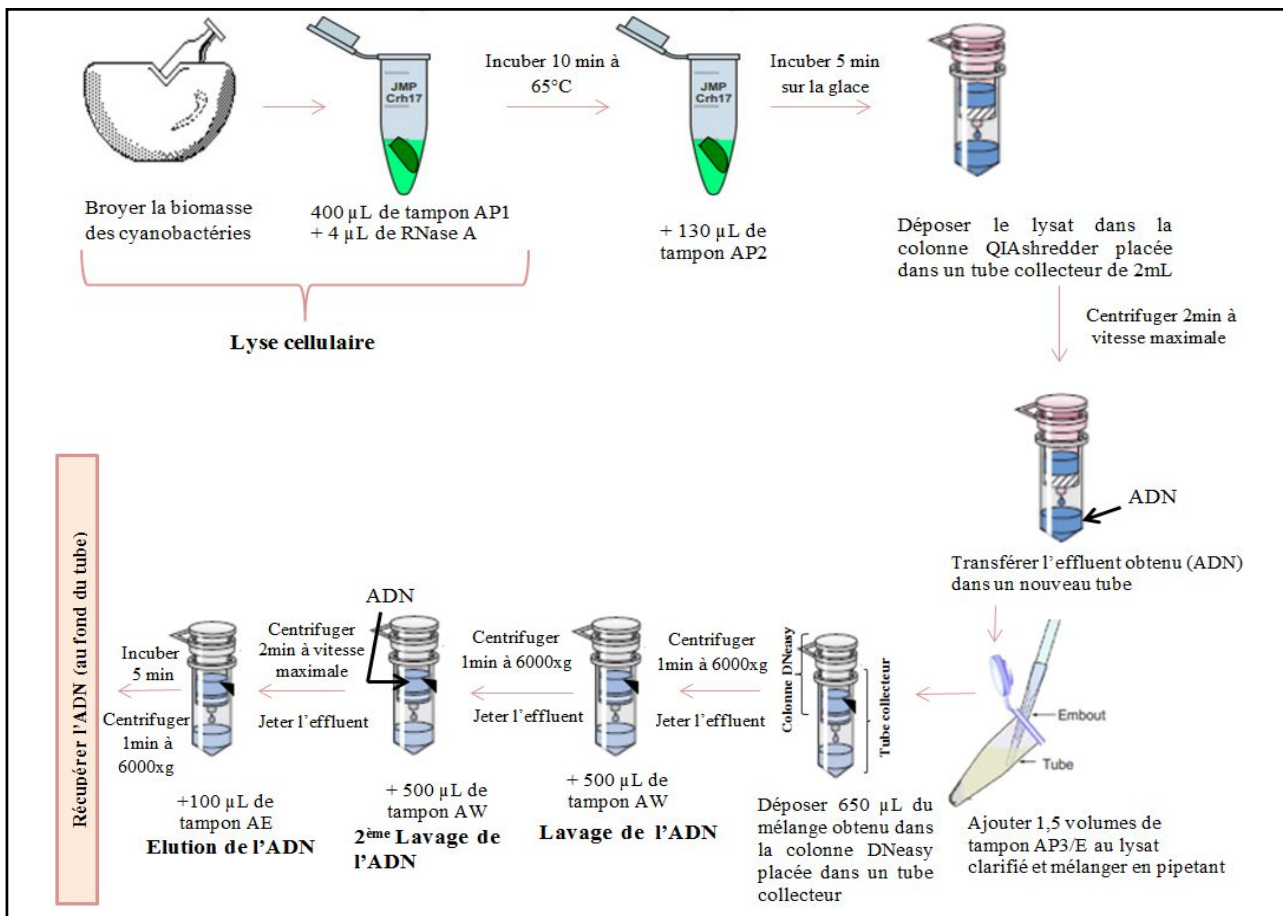


Figure 16. Schéma récapitulatif des étapes de l'extraction de l'ADN total à partir des cyanobactéries à l'aide du kit DNeasy Mini Plant de Qiagen (France).

II.9.2. Amplification du gène de 16S rRNA

Le fragment de l'ADN, codant la région 16S rRNA est amplifié par la technique de la PCR (Polymerase Chain Reaction).

II.9.2.1. Préparation du Master mix PCR

Dans le but d'amplifier les gènes codant la sous unité 16S rRNA, des amorces universelles spécifiques pour le règne bactérien synthétisées par Eurofins Genomics, (France) sont utilisées. L'amorce du brin matrice est 27F (5' -AGAGTTTGATCCTGGCTCAG- 3') et l'amorce du brin complémentaire est 1492R reverse primer (5' -GGTACCTTGTTACGACTT- 3'). Le master mix d'une réaction PCR d'un volume final de 25 µL est constitué de :

- Tampon Taq : 5 µL
- MgCl₂: 1,5 µL
- Les Désoxyribonucléotides : 0,2 µL
- L'amorce F : 1,25 µL
- L'amorce R : 1,25 µL
- La Taq polymérase : 0.2 µL
- L'ADN à analyser : 4 µL
- H₂O (eau ultra pure stérile) qsp 25 µL (volume final par échantillon).

II.9.2.2. Programmation du thermocycleur

La PCR est réalisée par l'utilisation d'un thermocycleur de type Icycler de Biorad (Biorad, USA) selon le profil suivant: un cycle de dénaturation initiale à 95°C pendant 5 minutes, suivi par 35 cycles comportant 30 secondes de dénaturation à 95°C, 30 secondes d'hybridation à 58°C et 45 secondes d'élongation à 72°C. A la fin du dernier cycle, une incubation de 7 minutes à 72°C permet d'achever la synthèse de l'ADN en cours.

II.9.3. Electrophorèse et purification des produits de la PCR

L'électrophorèse fournit des informations nécessaires, notamment le poids moléculaire du gène amplifié grâce à la comparaison avec des marqueurs de taille. Pour cela, une concentration de 1,5% (poids/volume) du gel d'agarose est préparée dans un volume final de 100 mL. L'ajout de quelques gouttes de bromure d'éthidium (BET) avant la solidification du gel d'agarose à une température ambiante, permet la révélation des acides nucléiques à travers son intercalation entre les bases d'ADN, visualisé par les rayonnements ultra violettes. Le peigne est inséré dans le gel d'agarose avant sa solidification afin des créer les puits, qui vont être utilisés pour accueillir les amplifias d'ADN. Le gel d'agarose est immergé dans la

cuvette contenant le liquide de migration (Tris/Acétate/EDTA), en ajustant le générateur du champ électrique à 120 volts pendant 25 minutes. Le gel est déposé sous une lampe ultraviolette afin d'observer les bandes d'ADN fluorescentes obtenues.

Les bandes fluorescentes représentant les produits PCR sont découpées et les ADN sont purifiés à l'aide du kit commercial Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System de Promega dont la composition est la suivante :

- Colonne filtrante « SV Minicolumn ».
- Tubes de collecte, stériles de 2 mL.
- Membrane Binding Solution.
- Membrane Wash Solution.
- Nuclease-Free Water.

Le protocole suivi pour purifier les bandes fluorescentes obtenues après électrophorèse à partir du gel d'agarose en utilisant un kit de purification d'ADN Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System de Promega passe par les étapes suivantes :

- Récupération et transfert des bandes d'ADN visualisées dans des éppendorfs identifiés pour chaque échantillon ;
- Elimination du gel par l'ajout d'un volume de 10 µL d'une solution « Membrane Binding Solution », et incubation à une température de 50-65°C jusqu'à la dissolution total du gel.
- Introduction d'un volume du gel dilué dans une colonne filtrante « SV Minicolumn », placée dans un tube collecteur et centrifugation à une vitesse de 16000xg pendant 1 min ;
- L'ajout d'un volume de 700 µL d'une solution de lavage « Membrane Wash Solution » dans la colonne filtrante, et collecte des amplifias d'ADN par centrifugation à sec pendant 1 min ;
- Elution de l'ADN par un volume de 50 µL de Nuclease-Free Water, et centrifugation pendant 1 min à 16000xg.
- Récupération et conservation de l'ADN à une température de -20°C.

II.9.4. Séquençage des gènes amplifiés (16S rRNA)

Le séquençage d'un ADN, consiste à déterminer la succession des nucléotides qui le composent. Dans ce présent travail, le séquençage de l'ADN amplifié et purifié a été réalisé par la firme (DIAG GENE, Angers-France) selon la méthode de Sanger (**Sanger *et al.*, 1977**) (**Figure 17**), en utilisant le kit BigDye® Terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems) et des amorces universelles (27F et 1492R).

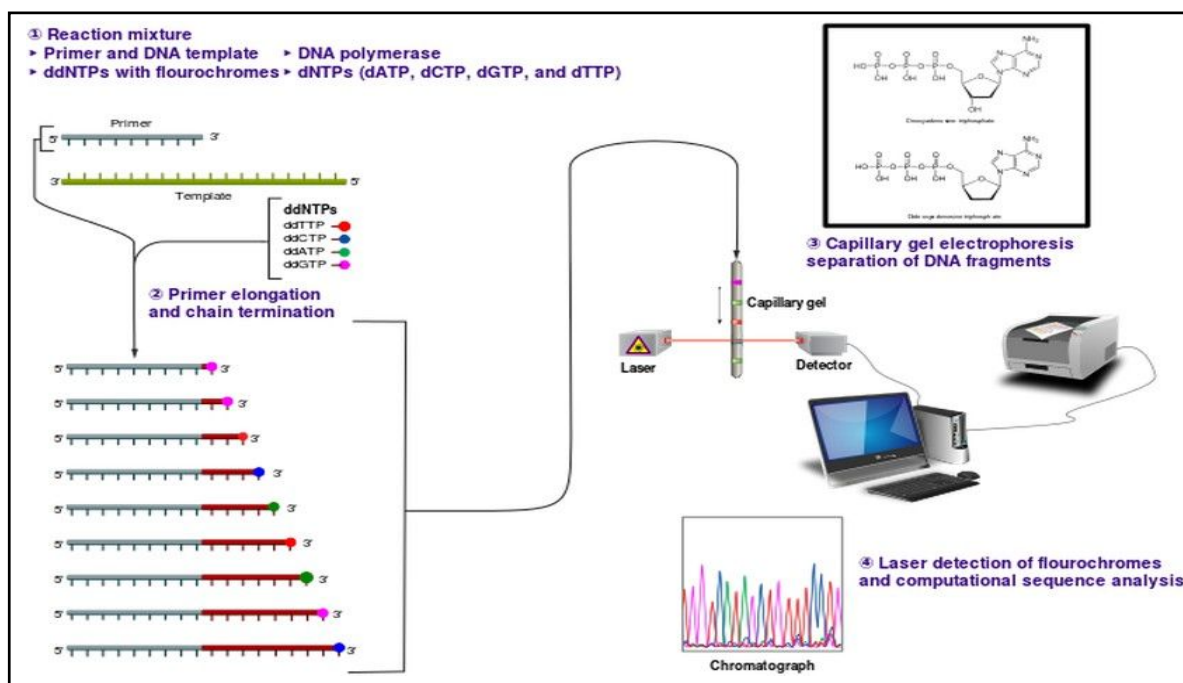


Figure 17. Schéma récapitulatif des étapes de séquençage selon la méthode de Sanger (Rowland, 2003).

II.9.5. Assemblage et correction des séquences brutes

Les séquences brutes fournies par le séquençage ont été analysées afin d'éliminer toute les erreurs de la Taq polymérase ainsi que les séquences des deux amorces insérées de part et d'autre des deux brins d'ADN. Dans un premier temps, la séquence brute synthétisée de chaque souche à partir du brin matrice est alignée avec la séquence brute synthétisée à partir du brin matrice. Pour l'alignement des séquences brutes, le programme utilisé est CHROMAS PRO. Après correction des erreurs, les deux brins sont assemblés pour former une séquence consensus.

II.9.6. Soumission des séquences génétiques à la base de données Genbank

Après l'assemblage et correction des séquences brutes et l'obtention des séquences consensus de chaque souche analysée. Les séquences sont publiées dans la base de données Genbank à NCBI, (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) afin d'obtenir des numéros d'accès, considérés comme des codes identifiants de la séquence génétique. Ensuite, chaque séquence est comparée avec l'ensemble des gènes codant la sous unité 16S rRNA, disponibles dans la base de données NCBI afin de connaître le degré de similarité et déterminer l'identité la plus exacte de chaque souche.

II.10. Etude statistique

Les résultats ont été exprimés sous la forme : moyenne $\pm$ erreur standard (ES) ou bien analysés par le test ANOVA à un facteur, en utilisant le logiciel Statistica, version 6.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. Paramètres physiques des écosystèmes aquatiques prospectés

Les résultats des analyses des paramètres physiques des eaux sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 5. Paramètres physiques des eaux de l’oued Mekerra et cascades d’El Ourit.

Analyse	Température (°C)	pH	Conductivité électrique (µS/cm)
Eau de l’oued Mekerra	23.5	8.14	9165
Eau des cascades d’El Ourit	14.5	7.71	494,5

Les valeurs de pH des eaux des deux régions sont légèrement alcalines. Ceci est probablement lié à l’activité photosynthétique du phytoplancton dont les cyanobactéries. En effet, la forte consommation du CO₂ par le phytoplancton lors de la photosynthèse, avec transformation du bicarbonate en carbonate, ce qui engendre l’augmentation de pH (**Sevrin-Reyssac *et al.*, 1995**). La valeur de la conductivité électrique enregistrée dans l’eau de l’oued Mekerra est relativement élevée due probablement aux charges polluantes. Selon **Franck (2002)**, tout rejet polluant s’accompagne d’un accroissement de la conductivité.

III.2. Isolement des cyanobactéries

L’isolement des cyanobactéries à partir des échantillons d’eau a été réalisé en utilisant les milieux de culture BG11 et BG11₀. Puisqu’elles sont photoautotrophes les cyanobactéries peuvent croître sur un milieu minéral simple. Ce milieu doit être supplémenté en nutriments essentiels pour la croissance cellulaire incluant les sources d’azote (pour les cyanobactéries non-hétérocystées), de phosphore et d’oligoéléments (**Rippka, 1988 ; Chorus et Bartram, 1999**).

Ainsi, un total de **neuf** isolats différents possédant l’aspect morphologique distinctif des cyanobactéries ont été récupérés à partir des échantillons d’eau. Parmi ces isolats, **cinq (D2O, D3O, D6O, D8O, D9O)** ont été isolés à partir des échantillons des « cascades d’El Ourit » et **quatre (D1M, D5M, D11M, D12M)** à partir des échantillons de « l’oued Mekerra ». Toutes les colonies de cyanobactéries obtenues présentent un aspect filamenteux (**Figure 18**).

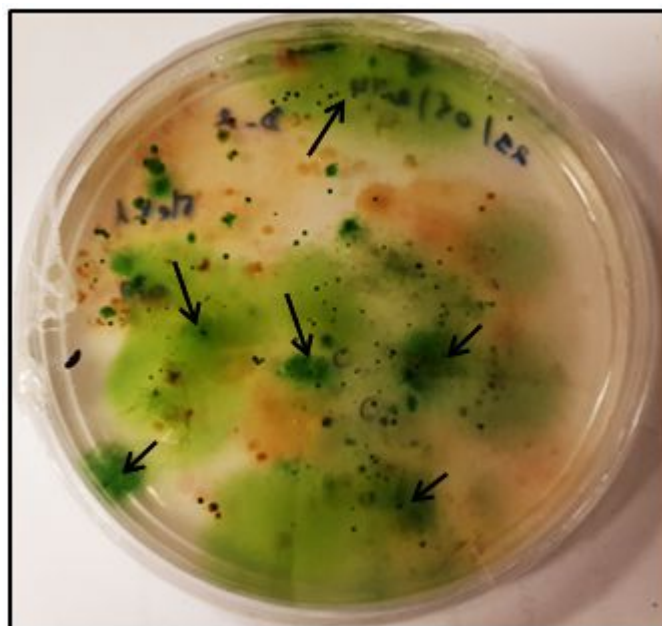


Figure 18. Isolement des cyanobactéries à partir de l'échantillon d'eau de « l'oued Mekkera » par méthode des suspensions-dilutions, inoculées sur le milieu de culture BG11 et incubées à $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sous une lampe de flux lumineux compris entre 3-4 Klux en fonction d'une photopériode de 16/8 heures.

Les flèches indiquent quelques colonies de cyanobactéries après quatre semaines d'incubation.

Sur l'ensemble des neuf souches de cyanobactéries isolées, une souche a été obtenue sur le milieu BG 11₀ et les autres souches sur le milieu BG11. Cela peut s'expliquer par le faible nombre des cyanobactéries qui différencient des hétérocystes, capables de fixer l'azote atmosphérique, dans les échantillons d'eau analysés.

L'emploi de l'actidione (cycloheximide) à raison de $75 \mu\text{g/mL}$ dans les milieux de culture a été très bénéfique. Il a permis l'inhibition significative des champignons envahisseurs, qui gênent considérablement la croissance des cyanobactéries à développement lent. Ces résultats corroborent parfaitement ceux de **Zehnder et Hughes (1958)** qui signalent les propriétés intéressantes de l'actidione à inhiber la croissance des *Chlorophyceae*, *Xantophyceae* et *Bacillariophyceae* mais pas celle des *Cyanophyceae*. De plus, ce produit est actif sur beaucoup de champignons, spécialement sur les levures, mais reste inactif sur les bactéries.

Il est important de signaler que le mucus sécrété par les cyanobactéries abrite une flore bactérienne importante, il en résulte une certaine difficulté à isoler des souches pures (**Roger et Reynaud, 1977**). Ce problème a été rencontré dans ce travail et dans d'autres travaux comme ceux de **Heyduck-Söller et Fischer (2000)** et de **Saoudi (2008)**. L'addition d'antibiotique permet de réduire de façon considérable le nombre de ces bactéries, mais ces antibiotiques ne sont pas sans effets sur les cyanobactéries qui appartiennent au groupe des bactéries à coloration de Gram négatif. Pour cette raison, l'ajout des antibiotiques dans les milieux d'isolement a été évité.

III.3. Identification des isolats de cyanobactéries

III.3.1. Caractéristiques macromorphologiques des isolats

Les neuf souches de cyanobactéries isolées sont morphologiquement identiques, de formes filamenteuses. Pour l'ensemble des souches isolées, les filaments sont réguliers avec une croissance aléatoire, planaire le long de la surface d'agar ou creuse, enfoncée dans l'agar. Elles se différencient par contre par la couleur des colonies ainsi que leurs tailles (**Figure 19 et 20**).

Les quatre souches D1M, D2O, D8O et D11M forment des colonies de couleur verdâtre qui peuvent avoir de grandes tailles. Leur croissance est rapide par rapport aux autres souches à l'exception de la souche D11M.

La souche D5M pousse lentement sur le milieu de culture. Les colonies sont de couleur brune, adhèrent fermement au milieu (incrustantes dans la gélose) et sont difficile à mettre en suspension.

Les trois souches D3O, D6O et D12M donnent des petites colonies bossues ayant une couleur verdâtre. Enfin, la souche D9O se développe sous forme de colonies envahissantes de couleur jaune verdâtre (vert pâle).

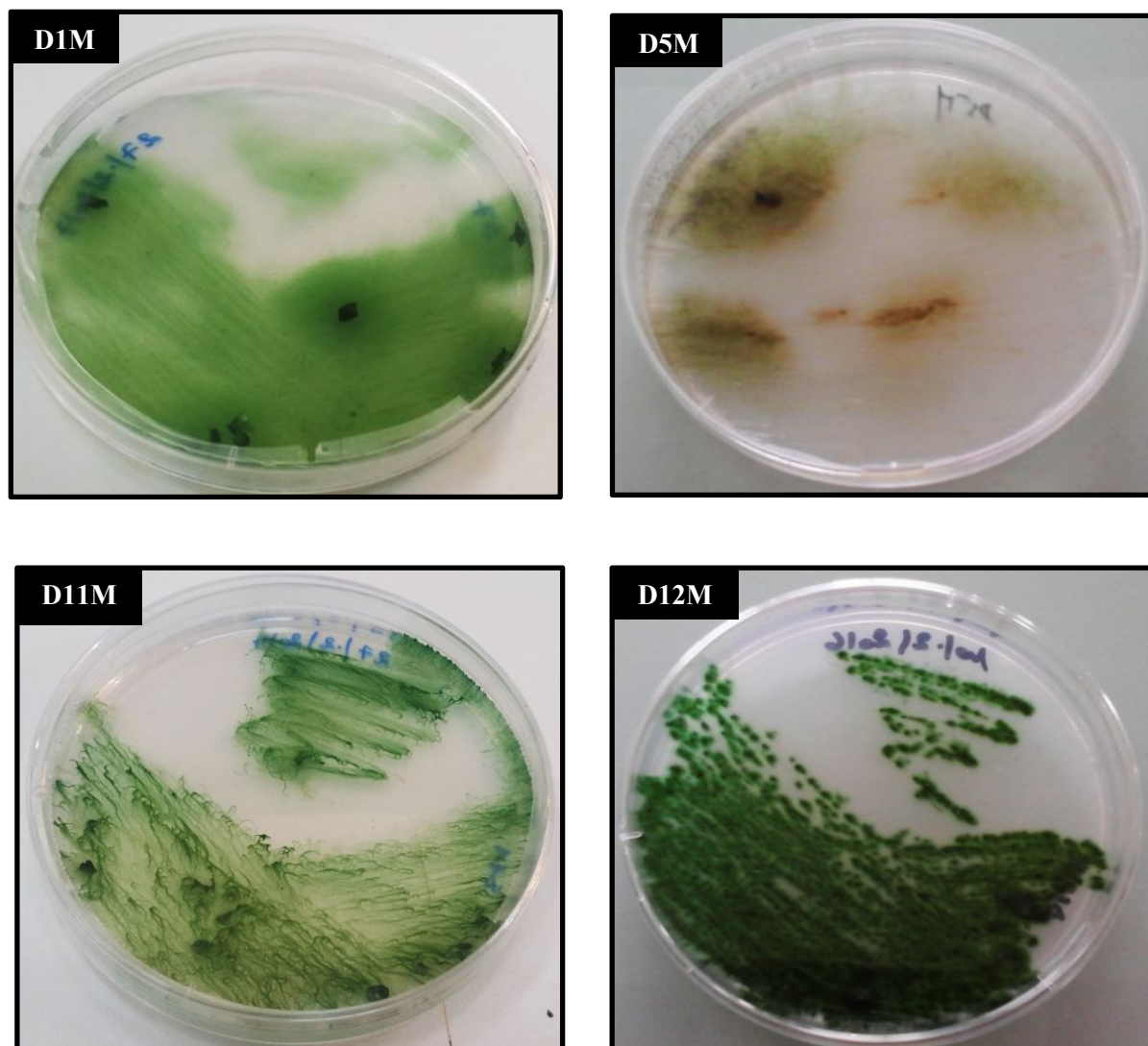


Figure 19. Macromorphologie des souches de cyanobactéries isolées à partir des échantillons de « l'oued Mekkera », inoculées sur le milieu de culture BG11 et incubées à $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sous une lampe de flux lumineux compris entre 3-4 Klux en fonction d'une photopériode de 16/8 heures.

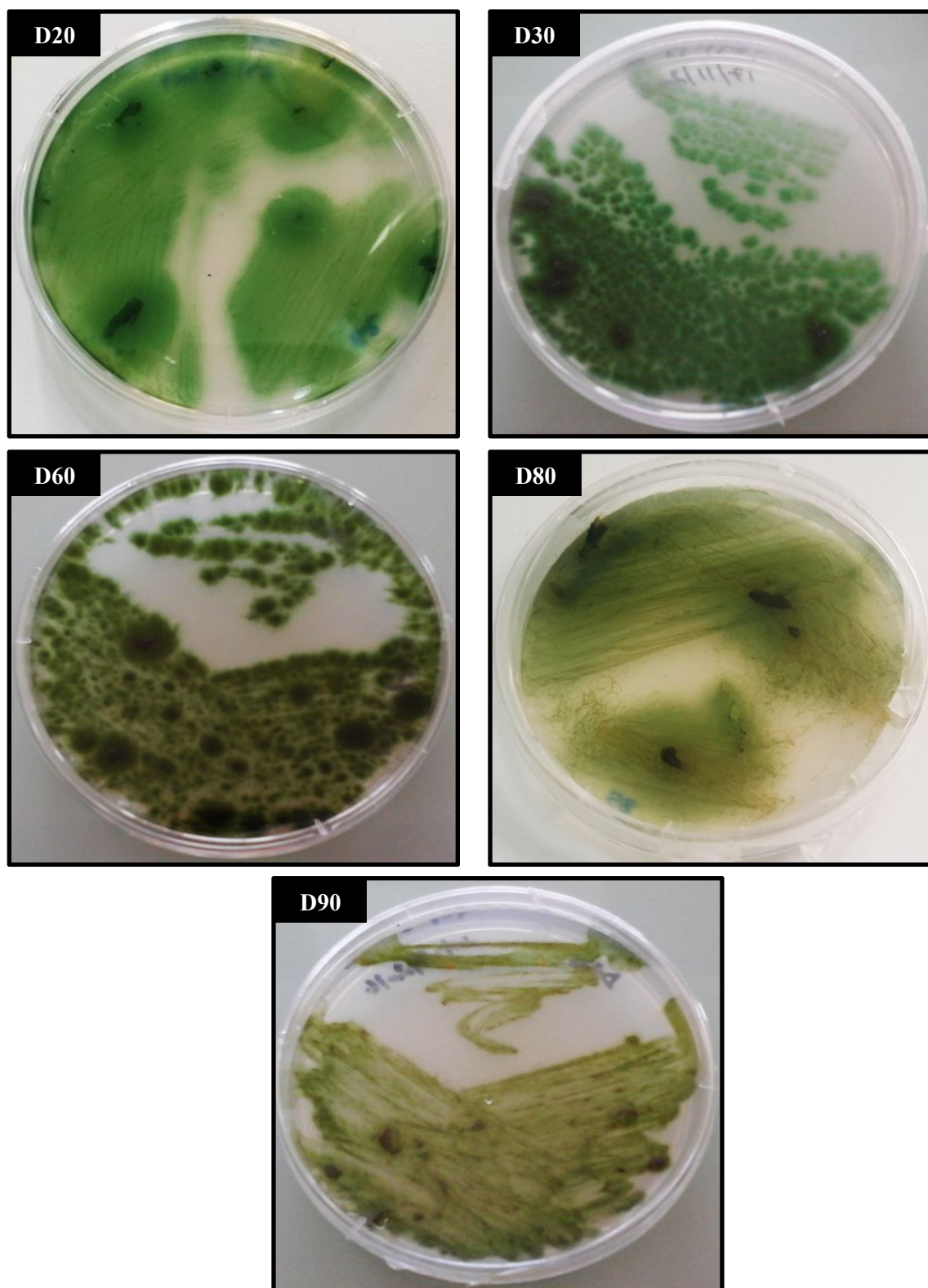


Figure 20. Macromorphologie des souches de cyanobactéries isolées à partir des échantillons des « cascades d'El Ourit », inoculées sur le milieu de culture BG11 et incubées à $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sous une lampe de flux lumineux compris entre 3-4 Klux en fonction d'une photopériode de 16/8 heures.

III.3.2. Caractéristiques micromorphologiques des isolats

La coloration de Gram a donné une couleur rose caractéristique des parois Gram négatif des cyanobactéries.

L'examen microscopique à l'état frais a permis d'identifier morphologiquement les isolats de cyanobactéries. L'ensemble des caractéristiques morphologiques est ensuite confronté aux clés d'identification de **Bourrelly (1985)**, **Komárek et Anagnostidis (1986 ; 1989 ; 1998 ; 2005)** et ceux de **Anagnostidis et Komárek (1988 ; 1990)**. Les espèces identifiées sont portées sur le **tableau 6**.

Tableau 6. Espèces de cyanobactéries isolées et identifiées.

Souches	Espèces	Familles	Milieux d'isolement	Lieux d'isolement
D1M	<i>Leptolyngbya sp1</i>	<i>Pseudanabaenaceae</i>	BG11	Oued Mekker
D2O	<i>Leptolyngbya foveolarum</i>	<i>Pseudanabaenaceae</i>	BG11	Cascades d'El Ourit
D3O	<i>Leptolyngbya boryana</i>	<i>Pseudanabaenaceae</i>	BG11	Cascades d'El Ourit
D5M	<i>Leptolyngbya sp.</i>	<i>Pseudanabaenaceae</i>	BG11	Oued Mekker
D6O	<i>Pseudanabaena sp.</i>	<i>Pseudanabaenaceae</i>	BG11	Cascades d'El Ourit
D8O	<i>Leptolyngbya sp2</i>	<i>Pseudanabaenaceae</i>	BG11	Cascades d'El Ourit
D9O	<i>Limnothrix sp.</i>	<i>Pseudanabaenaceae</i>	BG11	Cascades d'El Ourit
D11M	<i>Anabaena sp.</i>	<i>Nostocaceae</i>	BG11/BG 11 ₀	Oued Mekker
D12M	<i>Geitlerinema sp.</i>	<i>Pseudanabaenaceae</i>	BG11	Oued Mekker

Les espèces isolées appartiennent à la **classe** des *Cyanophyceae*, à **2 ordres** à savoir les *Oscillatoriales* et les *Nostocales*, à **2 familles** à savoir les *Pseudanabaenaceae* et les *Nostocaceae*, et elles représentent **5 genres** qui sont caractérisés par :

- **Famille des *Pseudanabaenaceae*** (ordre des *Oscillatoriales*)
 - ***Pseudanabaena***: cyanobactérie filamenteuse dont les trichomes sont solitaires, sans gaine (souvent avec des enveloppes mucilagineuses fines) et peuvent être mobiles. Les cellules sont cylindriques (rarement isodiamétriques) séparées par des constriction profondes et contiennent des aérotopes (groupes des vacuoles gazeuses).
 - ***Limnothrix*** : cyanobactérie filamenteuse dont les trichomes sont solitaires de 1 à 6 µm de large, peu mobiles, sans ou avec une gaine facultative très fine. Les cellules, allongées et parfois isodiamétriques, sont capables de produire des vacuoles gazeuses.

- ***Geitlerinema*** : il s'agit d'une cyanobactérie filamenteuse dont les trichomes sont mobiles, toujours sans gaine, de 1 à 4 μm de large et composés de cellules plus longues que larges. Les espèces de ce genre sont incapables de produire des nécridies mais contiennent des hormogonies mobiles.
- ***Leptolyngbia*** : c'est une cyanobactérie filamenteuse possédant de longs filaments fins de 0,5 à 3,5 μm de large, non mobiles avec une gaine persistante. Les cellules sont isodiamétriques, plus longues ou plus courtes que larges avec des constriction peu marquées ou absentes. La reproduction se fait par fragmentation et les nécridies peuvent être présentes. Les espèces de ce genre contiennent des hormogonies mobiles ou immobiles.

➤ **Famille des *Nostocaceae*** (ordre des *Nostocales*)

- ***Anabaena*** : cette cyanobactérie filamenteuse dont les trichomes sont mobiles ou immobiles est composée de cellules végétatives sphériques, ovoïdes ou cylindriques. La reproduction s'effectue par rupture des trichomes au hasard et par germination des akinètes si elles sont produites. Les hétérocystes sont intercalaires ou terminaux, la position des akinètes est variable et la cellule terminale est conique ou indifférenciée. Des vacuoles de gaz sont parfois présentes.

La description morphologique de chaque espèce identifiée a été donnée en annexe (**Annexe 4**) et les photos des espèces ont été étalées sous forme de planches (**Figure 21 et 22**).

Les *Pseudanabaenaceae* représentent 89% des souches isolées avec la dominance du genre *Leptolyngbia*. Plusieurs espèces de cette famille ont été inventoriées en Algérie dont *Pseudanabaena sp.*, *Spirulina sp.* et *Lyngbya sp.* isolées du barrage Mexa à El Taref (**Ouarts et al., 2011**), *Spirulina labyrinthiformis*, *Leptolyngbya foveolarum*, *Leptolyngbya laminosa*, *Leptolyngbya amplivaginata*, *Leptolyngbya boryana*, *Leptolyngbya circularis*, *Limnothrix sp.*, *Geitlerinema unigranulatum*, *Lyngbya thermalis* et *Pseudanabaena thermalis* isolées à partir de plusieurs sources thermales algériennes (**Amarouche-Yala, 2015**).

Les *Nostocaceae* (11% des souches isolées) sont représentées par *Anabaena*. En Algérie, les espèces de ce genre prédominent dans le lac Oubeira à El Taref (**Menail, 2000 ; Boulesnane et Chaibi, 2002**).

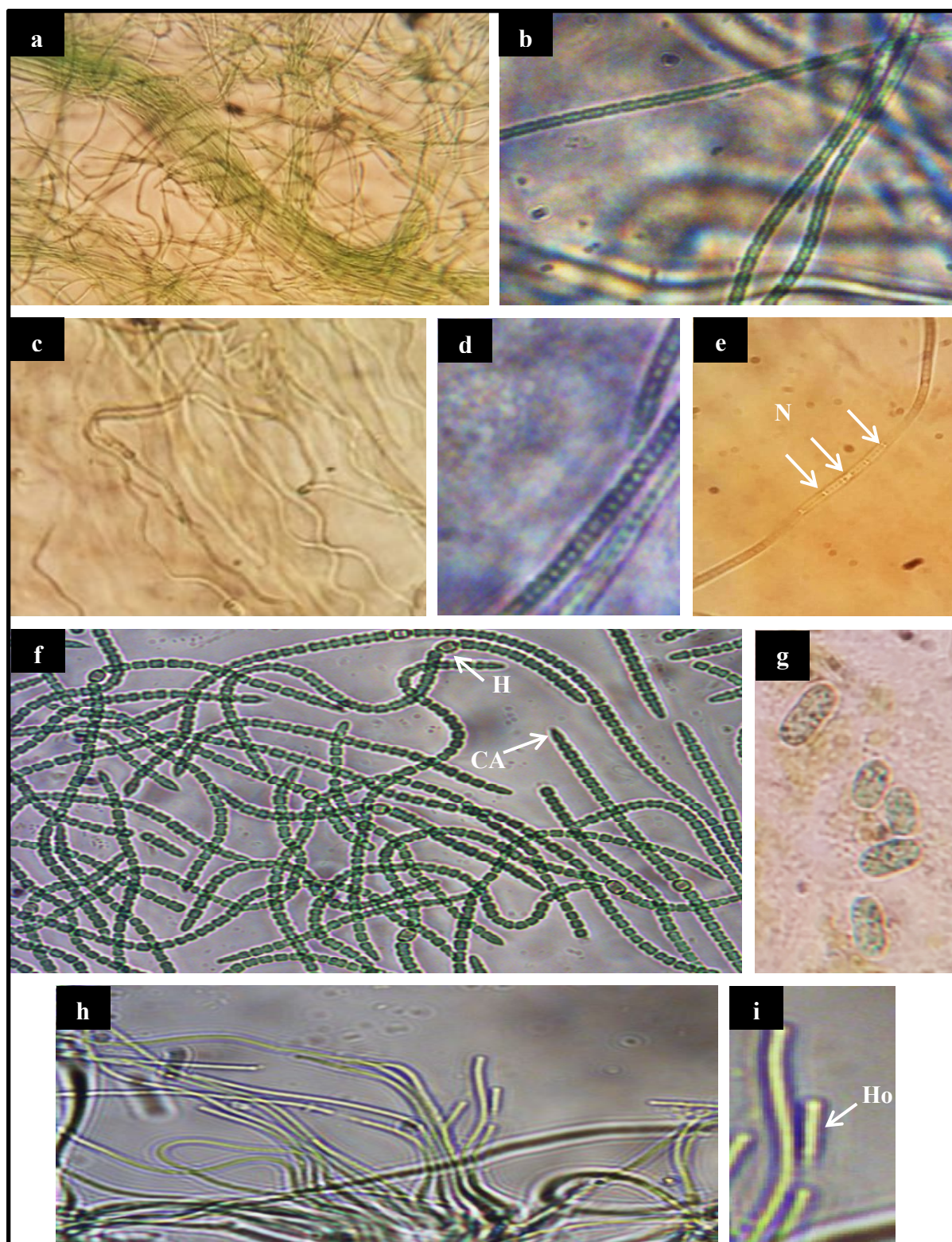


Figure 21. Micromorphologie (au microscope optique) des souches de cyanobactéries isolées à partir de « l'oued Mekkera ».

a) *Leptolyngbya sp1* X40 ; **b)** *Leptolyngbya sp1* X100 ; **c)** *Leptolyngbya sp.* X40 ; **d)** *Leptolyngbya sp.* X100 ; **e)** plusieurs nécridies (N) sur un même filament de *Leptolyngbya sp.* ; **f)** *Anabaena sp.* X100 avec des hétérocystes (H) intercalaires et des cellules apicales (CA) coniques ; **g)** les akinètes de *Anabaena sp.* X100 ; **h)** *Geitlerinema sp.* X100 ; **i)** hormogonie (Ho) mobile de *Geitlerinema sp.* X100.

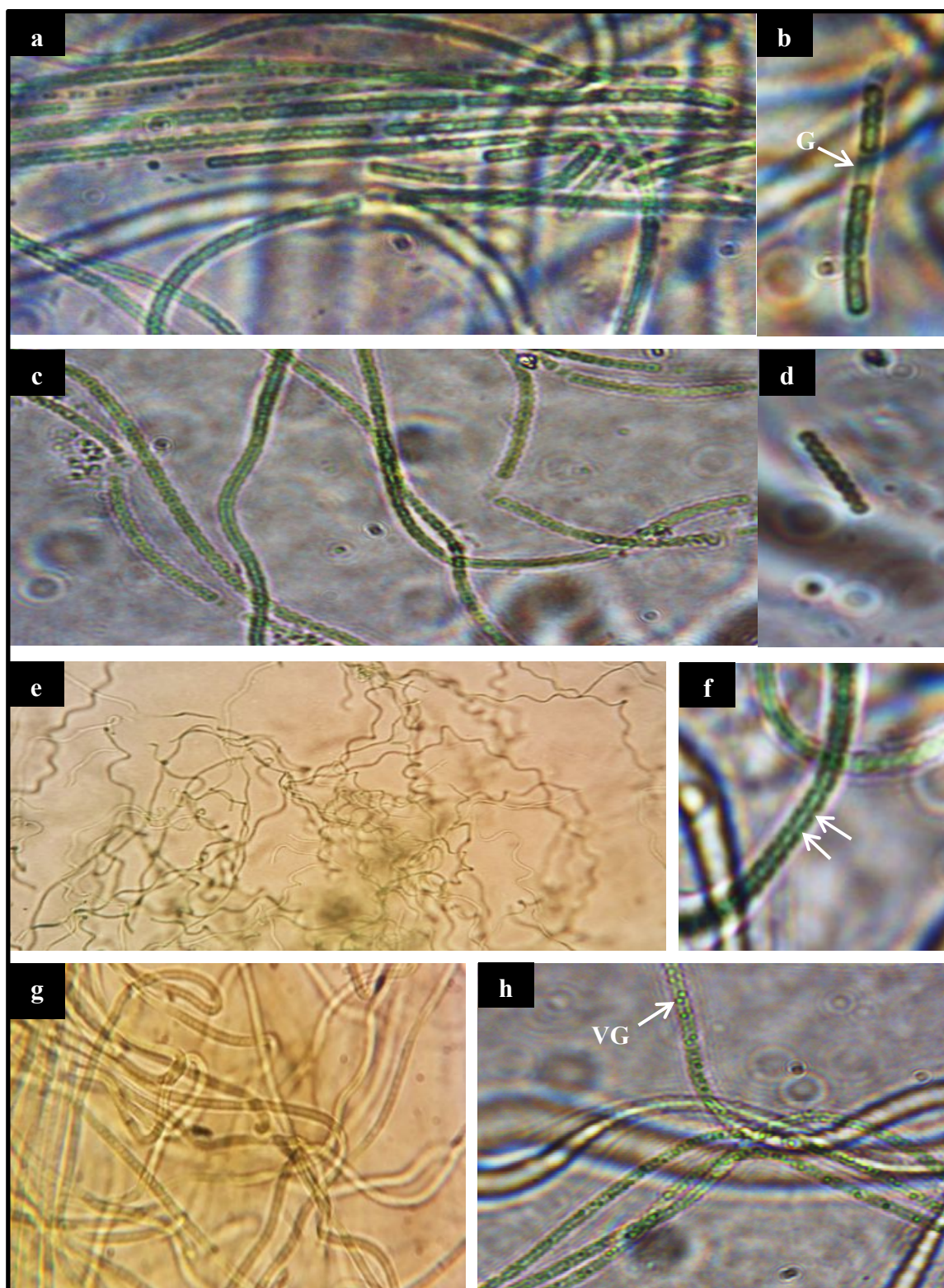


Figure 22. Micromorphologie (au microscope optique) des souches de cyanobactéries isolées à partir des « cascades d'El Ourit ».

a) *Leptolyngbya foveolarum* X 100 ; **b)** la gaine (G) de *Leptolyngbya foveolarum* X100 ; **c)** *Leptolyngbya boryana* X100 ; **d)** hormogonie mobile de *Leptolyngbya boryana* X100 ; **e)** *Pseudanabaena* sp. X40 ; **f)** *Pseudanabaena* sp. X100 (les flèches indiquent les constrictions profondes) ; **g)** *Leptolyngbya* sp2 X100 ; **h)** *Limnothrix* sp. X100 (la flèche indique les vacuoles gazeuses (VG)).

III.4. Estimation des pigments photosynthétiques

Les biomasses obtenues à partir de différents isolats de cyanobactéries, ont été utilisées pour l'extraction et le dosage de la chlorophylle *a* et des phycobiliprotéines. Les résultats du dosage de ces pigments sont représentés dans le **tableau 7**.

Tableau 7. Teneur en pigments photosynthétiques des isolats de cyanobactéries.

Isolats de cyanobactéries	Chlorophylle <i>a</i> (µg/mL)	Phycobiliprotéines (µg/mL)		
		C-PC	APC	PE
<i>Leptolyngbya sp1</i>	0,693±0,03	29,53±0,20	1,702±0,55	0,00±0,00
<i>Leptolyngbya foveolarum</i>	0,860±0,01	73,43±8,41	13,81±1,37	0,00±0,00
<i>Leptolyngbya boryana</i>	0,744±0,03	30,72±0,31	5,78±0,49	9,204±0,39
<i>Leptolyngbya sp.</i>	ND	ND	ND	ND
<i>Pseudanabaena sp.</i>	1,382±0,06	7,267±0,98	3,904±0,09	1,047±0,37
<i>Leptolyngbya sp2</i>	0,182±0,01	0,352±0,03	0,455±0,00	0,662±0,31
<i>Limnothrix sp.</i>	1,705±0,04	21,25±1,65	0,585±0,10	6,369±0,18
<i>Anabaena sp.</i>	0,682±0,08	15,087±0,86	3,969±0,18	0,00±0,00
<i>Geitlerinema sp.</i>	1,100±0,05	65,12±1,03	1,372±0,02	0,247±0,09

C-PC : C-phycoyanine ; *APC* : allophycoyanine ; *PE* : phycoérythrine ; chaque valeur représente la moyenne ± ES (n=3) ; *ND* : Non Déterminé.

L'analyse quantitative présentée sur le tableau 7 montre que la concentration maximale de la chlorophylle *a* a été notée chez *Limnothrix sp.* (1,705±0,04 µg/mL). La faible teneur a été enregistrée chez *Leptolyngbya sp2* (0,182±0,01 µg/mL). Ces teneurs en chlorophylle *a* sont inférieures à celles rapportées par **Singh** et ses collaborateurs (**2012**) chez une dizaine de souches de cyanobactéries isolées à partir des eaux douces d'une région indienne « Indo-Burma », soit des concentrations en chlorophylle *a* comprises entre 3,55 µg/mL et 5,72 µg/mL. Par contre, **Tiwari et Shivani (2012)** ont trouvé des concentrations en chlorophylle *a* de 0,16 µg/mL et 0,70 µg/mL chez deux cyanobactéries : *Anabaena variabilis* et *Synechococcus elongatus*, respectivement. Ces résultats sont comparables à ceux notés lors de cette étude. D'après **Neuveux (1974)**, la teneur en ce pigment est nettement influencée par beaucoup de facteurs tels que la composition spécifique, l'état physiologique des algues, la densité cellulaire, la lumière et la température.

Par ailleurs, les phycobiliprotéines sont des pigments hydrosolubles qui peuvent être divisés en trois groupes principaux selon leurs structures : allophycocyanine (APC), phycocyanine (PC) et phycoérythrine (PE) (Reis *et al.*, 1998). Les résultats du dosage des phycobiliprotéines ont révélé la présence de ces trois groupes principaux avec des proportions différentes dans les isolats de cyanobactéries à l'exception de la phycoérythrine qui est absente chez *Leptolyngbya* sp1, *Leptolyngbya foveolarum* et *Anabaena* sp. Il est important de souligner que la phycocyanine a constitué la principale phycobiliprotéine dans la majorité des isolats, avec une valeur maximale ($73,43 \pm 8,4$ µg/mL) enregistrée chez *Leptolyngbya foveolarum* et une valeur minimale ($0,352 \pm 0,03$ µg/mL) notée chez *Leptolyngbya* sp2. La phycocyanine a été suivie de l'allophycocyanine dont les concentrations varient de $0,455 \pm 0,00$ µg/mL chez *Leptolyngbya* sp2 à $13,81 \pm 1,37$ µg/mL chez *Leptolyngbya foveolarum*. Enfin, la phycoérythrine a constitué la phycobiliprotéine la moins dominante. Ces résultats sont en accord avec les travaux réalisés en Inde par Pandey et Pandey (2013) et Paul et Rout (2017). En effet, ces auteurs ont montré la présence des trois groupes de phycobiliprotéines dans des espèces de cyanobactéries filamenteuses, hétérocystées et non hétérocystées, avec prédominance de la phycocyanine.

La forte teneur en pigments photosynthétiques pourrait être d'un grand intérêt industriel (Charpy *et al.*, 2008). En effet, ces isolats de cyanobactéries peuvent être modifiés génétiquement pour un meilleur rendement.

III.5. Screening phytochimique

Une investigation phytochimique préliminaire a été entreprise et a permis de mettre en évidence divers métabolites secondaires. Le **tableau 8**, regroupe les résultats des tests chimiques réalisés sur les isolats de cyanobactéries.

Tableau 8. Métabolites secondaires mis en évidence au niveau des isolats de cyanobactéries.

Isolats de cyanobactéries	Tanins	Flavonoïdes	Alcaloïdes	Stéroïdes	Saponosides	Terpénoides
<i>Leptolyngbya sp1</i>	+	+	++	-	-	-
<i>Leptolyngbya foveolarum</i>	+	+	++	-	-	-
<i>Leptolyngbya boryana</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Leptolyngbya sp.</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Pseudanabaena sp.</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Leptolyngbya sp2</i>	+	+	+	-	-	+
<i>Limnothrix sp.</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Anabaena sp.</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Geitlerinema sp.</i>	+	+	++	-	-	-

(++) Richesse ; (+) Présence ; (-) Absence ; **ND** : Non Déterminé.

D'après les résultats obtenus, les neuf isolats de cyanobactéries analysés contiennent les tanins, les flavonoïdes et les alcaloïdes. Cependant, ils sont dépourvus de stéroïdes et de saponosides. Il ressort également du tableau 8 que seule *Leptolyngbya sp2* contient les terpénoides.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de **Zeeshan et al. (2010)** qui ont trouvé des tannins, des flavonoïdes et des alcaloïdes dans la majorité des espèces de cyanobactéries analysées (*Nostoc muscorum*, *Tolypothrix sp.* et *Phormidium sp.*).

L'étude de **El Semary et Abd El Naby (2010)** a par contre montré la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes et des saponosides et l'absence des tanins chez *Synechocystis sp.*, une cyanobactérie unicellulaire, isolée à partir des eaux du canal « Terraat El Khashaab », Helwan en Egypte. Un autre screening phytochimique réalisé par **Sharathchandra et Rajashekhar (2012)** sur des espèces de cyanobactéries (*Phormidium fragile*, *Lyngbya limnetica*, *Scytonema bohnnerii* et *Calothrix fusca*) obtenues à partir de la mer d'Arabie à Karnataka en Inde a montré la présence des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des terpénoides et des stéroïdes dans la majorité de ces espèces.

Il ressort ainsi, l'existence d'une variabilité spatiale des métabolites secondaires secrétés par les cyanobactéries. Ces différences de composition phytochimique ne sont que le reflet de l'influence des facteurs biotiques et abiotiques sur la synthèse des métabolites secondaires par ces micro-organismes.

III.6. Diagnostic bactériologique des infections nosocomiales

De décembre 2014 à février 2015, vingt souches bactériennes ont été obtenues à partir des patients ayant contracté une infection nosocomiale dans différents services de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire d'Oran (le caractère nosocomial de ces infections a été confirmé par les cliniciens en se basant sur des signes cliniques).

III.6.1. Identification des souches bactériennes isolées

III.6.1.1. Identification morphologique et biochimique

Les résultats de l'étude macroscopique, microscopique et biochimique sont mentionnés dans le **tableau 9**.

Tableau 9. Résultats de l'étude macroscopique, microscopique et biochimique des souches bactériennes isolées.

N°	Aspect macroscopique		Culture		Aspect microscopique		Tests biochimiques		Nom du germe
	Forme	Taille	Milieux	Conditions	Etat frais	Coloration de Gram	Catalase	Oxydase	
1013	Petites colonies jaunâtres	2mm	Gélose nutritive	24h/ 37°C	Cocci immobile	Gram négatif	+	-	<i>Acinetobacter baumannii</i>
4127	Petites colonies jaunâtres	2mm	Gélose nutritive	24h/ 37°C	Cocci immobile	Gram négatif	+	-	<i>Acinetobacter baumannii</i>
200	Grosses colonies jaunâtres	3mm	Hektoen	24h/ 37°C	Bacille immobile	Gram négatif	+	-	<i>Escherichia coli</i>
105	Petites colonies jaunâtres	2mm	Gélose au sang frais	24h/ 37°C	Cocci immobile	Gram positif	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
385	Petites colonies jaunâtres	2mm	Gélose nutritive	24h/ 37°C	Cocci immobile	Gram négatif	+	-	<i>Acinetobacter baumannii</i>
328	Grosses colonies muqueuses jaunâtres	3mm	Hektoen	24h/ 37°C	Bacille immobile	Gram négatif	+	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
84	Grosses colonies muqueuses jaunâtres	3mm	Hektoen	24h/ 37°C	Bacille immobile	Gram négatif	+	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
455	Grosses colonies jaunâtres	3mm	Hektoen	24h/ 37°C	Bacille immobile	Gram négatif	+	-	<i>Escherichia coli</i>
537	Grosses colonies verdâtres	4mm	Hektoen	24h/ 37°C	Bacille mobile	Gram négatif	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Résultats et discussions

190	Petites colonies jaunâtres	2mm	Gélose au sang frais	24h/ 37°C	Cocci immobile	Gram positif	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
362	Petites colonies jaunâtres	2mm	Gélose nutritive	24h/ 37°C	Cocci immobile	Gram négatif	+	-	<i>Acinetobacter baumannii</i>
496	Petites colonies jaunâtres	2mm	Gélose au sang frais	24h/ 37°C	Cocci immobile	Gram positif	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
499	Grosses colonies muqueuses jaunâtres	3mm	Hektoen	24h/ 37°C	Bacille immobile	Gram négatif	+	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
920	Petites colonies jaunâtres	2mm	Gélose au sang frais	24h/ 37°C	Cocci immobile	Gram positif	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
222	Petites colonies jaunâtres	2mm	Gélose au sang frais	24h/ 37°C	Cocci immobile	Gram positif	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
2104	Grosses colonies jaunâtres	3mm	Hektoen	24h/ 37°C	Bacille immobile	Gram négatif	+	-	<i>Escherichia coli</i>
2195	Grosses colonies jaunâtres	3mm	Hektoen	24h/ 37°C	Bacille immobile	Gram négatif	+	-	<i>Escherichia coli</i>
377	Grosses colonies muqueuses jaunâtres	3mm	Hektoen	24h/ 37°C	Bacille immobile	Gram négatif	+	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	Grosses colonies verdâtres	4mm	Hektoen	24h/ 37°C	Bacille mobile	Gram négatif	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2544	Grosses colonies jaunâtres	3mm	Hektoen	24h/ 37°C	Bacille immobile	Gram négatif	+	-	<i>Escherichia coli</i>

III.6.1.2. Identification par les galeries biochimiques

Les résultats obtenus par les galeries API sont représentés par les **figures 23** et **24**.



Figure 23. Galerie API 20 NE pour l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*.



a. Galerie API 20 E pour l'identification d'*Escherichia coli*.



b. Galerie API 20 E pour l'identification de *Klebsiella pneumoniae*.



c. Galerie API 20 E pour l'identification d'*Acinetobacter baumannii*.

Figure 24. Galeries biochimiques API 20 E.

III.6.1.3. Tests spécifiques pour l'identification de *Staphylococcus aureus*

III.6.1.3.1. Test de coagulase

Les souches cocci à Gram positif, immobiles, possédant une catalase se sont avérées coagulase positive ce qui a permis de les assigner à l'espèce *Staphylococcus aureus*.

III.6.1.3.2. Test d'agglutination (Test Staphaurex)

Le résultat du test Staphaurex a fait ressortir une réaction d'agglutination entre *Staphylococcus aureus* et les particules de latex (**Figure 25**).

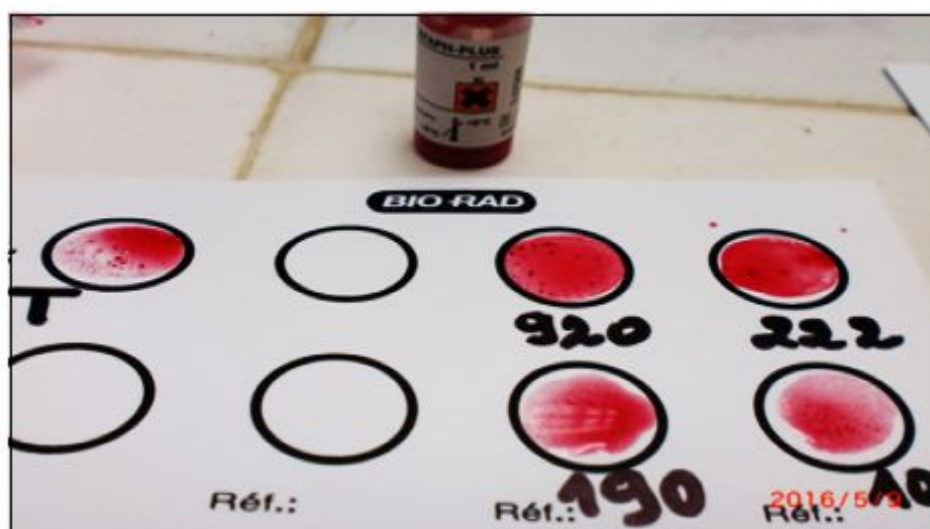


Figure 25. Test Staphaurex.

Le **tableau 10** récapitule l'ensemble des résultats des tests spécifiques (test de coagulase et Staphaurex) appliqués pour l'identification de *Staphylococcus aureus*.

Tableau 10. Résultats des tests spécifiques (test de coagulase et Staphaurex).

Souches	Test de coagulase	Test Staphaurex
<i>S. aureus</i> ATCC 25923 (Témoin)	+	+
920	+	+
222	+	+
105	+	+
190	+	+
496	+	+

III.6.2. Fréquence des bactéries isolées

Grâce aux différentes techniques appliquées ci-dessus, cinq espèces bactériennes ont été isolées, à savoir : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. La figure suivante montre la fréquence des bactéries isolées de patients atteints d'infections nosocomiales.

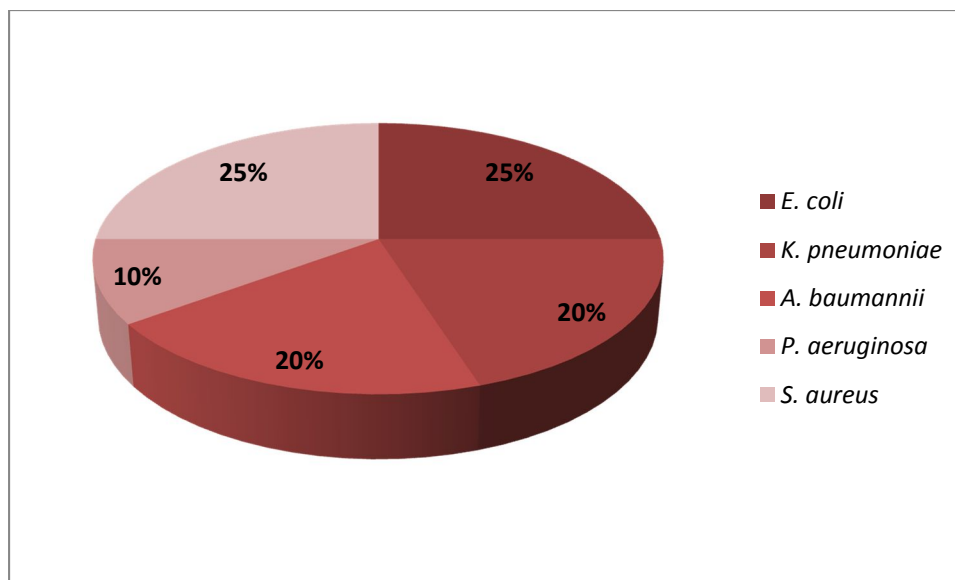


Figure 26. Fréquence des bactéries isolées de patients atteints d'infections nosocomiales.

D'après la figure 26, les bacilles à Gram négatif (BGN) sont les germes les plus isolés (75%), ils sont dominés par *E. coli* (25%), suivie de *K. pneumoniae* (20%) et de *A. baumannii* (20%), puis vient *P. aeruginosa* (10%). Les cocci à Gram positif sont représentés essentiellement par le staphylocoque doré avec un taux de 25%.

Les mêmes germes ont été cités par **El Marfi (2014)**, tout en montrant l'importance incrimination des BGN dans les infections nosocomiales au service de réanimation polyvalente A1 du CHU Hassan II de Fès (Maroc), soit 71,7% des cas.

Dans une étude effectuée dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne, quatre espèces bactériennes représentaient presque la moitié des germes isolés : *E. coli* (17,2 %), *S. aureus* (12,5 %), *P. aeruginosa* (9,2 %) et *K. pneumoniae* (9,2 %) (**Amazian et al., 2010**). Une autre étude faite par **Toudef et ses collaborateurs (2013)** au CHU de Tizi-Ouzou a montré que sur les 24 infections nosocomiales notifiées, près de la moitié (43%) des germes isolés sont des BGN, plus particulièrement *E. coli* et *Klebsiella spp.* Les résultats trouvés par ces auteurs ressemblent aux résultats obtenus dans la présente étude.

Enfin, il est très important de signaler que la répartition de ces germes nosocomiaux est influencée surtout par l'organe infecté (Douglas *et al.*, 2004 ; Lee *et al.*, 2005 ; Thiolet *et al.*, 2006).

III.6.3. Etude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques

Les résultats de l'antibiogramme appliqué aux différentes souches bactériennes isolées sont consignés dans le **tableau 11**.

Tableau 11. Résistance et sensibilité des souches bactériennes isolées de patients atteints d'infections nosocomiales aux antibiotiques.

Souches bactériennes	Antibiotiques											
<i>E. coli</i> 200 <i>E. coli</i> 2195 <i>E. coli</i> 2104 <i>E. coli</i> 455 <i>E. coli</i> 2544	AMP	AMC	TIC	PIP	CZO	CTX	CAZ	IPM	AMK	GEN	CIP	SXT
	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R
	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R
	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R
	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R
<i>K. pneumoniae</i> 84 <i>K. pneumoniae</i> 328 <i>K. pneumoniae</i> 499 <i>K. pneumoniae</i> 377	AMP	AMC	TIC	PIP	CZO	CTX	CAZ	IPM	AMK	GEN	CIP	SXT
	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R
	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R
<i>A. baumannii</i> 385 <i>A. baumannii</i> 4127 <i>A. baumannii</i> 1013 <i>A. baumannii</i> 362	TIC	PIP	TCC	CAZ	ATM	IPM	AMK	GEN	TOB	CIP	SXT	
	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
<i>P. aeruginosa</i> 537 <i>P. aeruginosa</i> 377	TIC	PIP	CAZ	IPM	ATM	FOS	COL	CIP	AMK	GEN	TOB	
	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	
	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	

	P	OXA	FOX	GEN	AMK	TOB	VAN	CIP	TCY	SXT	RIF
<i>S. aureus</i> 920	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S
<i>S. aureus</i> 190	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>S. aureus</i> 496	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
<i>S. aureus</i> 105	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>S. aureus</i> 222	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S

R: Résistante ; **S:** Sensible ; **AMP:** Ampicilline ; **P:** Pénicilline ; **AMC:** Amoxicilline/ Acide Clavulanique ; **TIC:** Ticarcilline ; **PIP:** Pipéracilline ; **CZO:** Céfazoline ; **CTX:** Céfotaxime ; **CAZ:** Ceftazidime ; **IPM:** Imipénème ; **AMK:** Amikacine ; **GEN:** Gentamycine ; **CIP:** Ciprofloxacine ; **SXT:** Triméthoprim/Sulfaméthoxazole ; **TCC:** Ticarcilline/ Acide Clavulanique ; **ATM:** Aztréonam ; **TOB:** Tobramycine ; **COL:** Colistine ; **FOS:** Fosfomycine ; **OXA:** Oxacilline ; **FOX:** Céfoxitine ; **RIF:** Rifampicine ; **VAN:** Vancomycine ; **TCY:** Tétracycline.

D'après le tableau ci-dessus, la résistance aux antibiotiques est rencontrée chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. A l'exception de *E. coli* 455 et *K. pneumoniae* 84, tous les isolats d'entérobactéries ont présenté une résistance à la majorité des antibiotiques de la famille des β -lactamines. Une résistance est également observée vis-à-vis de quelques sulfamides « triméthoprim/sulfaméthoxazole » et quinolones « ciprofloxacine ». En revanche, les aminosides « amikacine et gentamycine » ont révélé une activité inhibitrice de la croissance de la plupart des isolats d'entérobactéries.

Pour *A. baumannii*, toutes les souches isolées sont résistantes à tous les antibiotiques testés à l'exception de la souche *A. baumannii* 385 qui a présenté une sensibilité à la tobramycine. A l'inverse toutes les souches de *P. aeruginosa* sont sensibles à tous les antibiotiques testés sauf pour l'aztréonam chez *P. aeruginosa* 537 ainsi que l'imipénème et la fosfomycine chez *P. aeruginosa* 377.

Il ressort également au vu de ces résultats que les deux souches de *S. aureus* (*S. aureus* : 920 et 222) sont résistantes à tous les antibiotiques de la famille des β -lactamines testés. Alors qu'une sensibilité très remarquable est rencontrée chez les autres souches de *S. aureus* vis-à-vis des antibiotiques de cette famille (exception pour la pénicilline). L'étude de la sensibilité des isolats de *S. aureus* aux autres familles d'antibiotiques a révélé des profils de sensibilité aux aminosides, vancomycine, ciprofloxacine, tétracycline, rifampicine et les sulfamides sauf pour *S. aureus* 222. Cette dernière est résistante à la majorité des antibiotiques testés même à la vancomycine qui est considérée comme la molécule de dernière ligne dans le traitement des infections staphylococciques (Rebiahi, 2011).

III.6.3.1. Fréquence des bactéries multi-résistantes (BMR)

En milieu hospitalier, les bactéries multirésistantes (qui sont dites BMR) posent des problèmes thérapeutiques difficiles. Ces bactéries sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisés en clinique (Andremont, 1997). La fréquence des bactéries multi-résistantes isolées est illustrée par la **figure 27**.

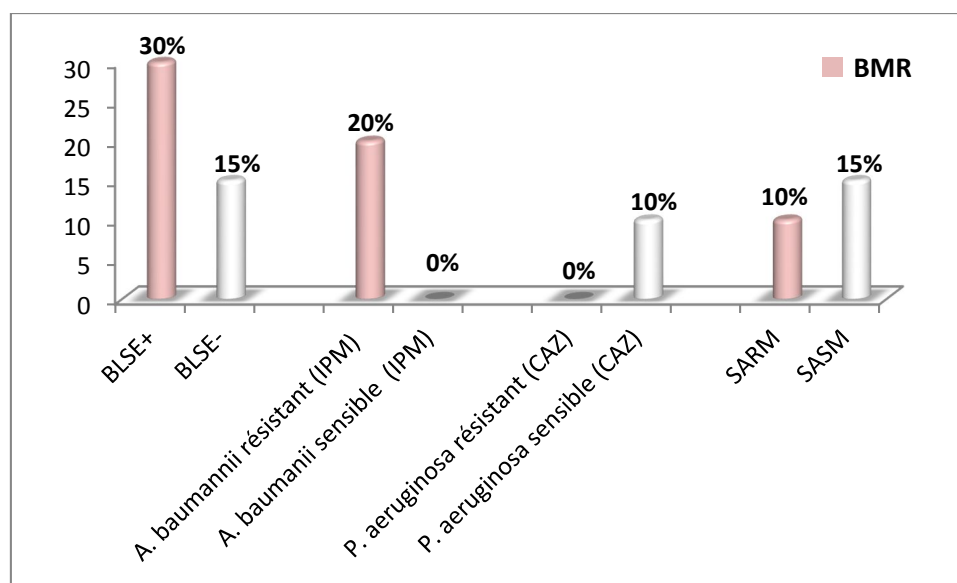


Figure 27. Fréquence des BMR isolées de patients atteints d'infections nosocomiales.

Dans la présente étude, **60%** de ces infections étaient en rapport avec des germes hospitaliers nosocomiaux multirésistants :

- Pour les entérobactéries, une image de synergie d'activité est observée chez **30%** des souches nosocomiales isolées (*E. coli* : 2195, 2104 et 2544/ *K. pneumoniae* : 328, 499 et 377) entre les deux disques AMC et CTX donnant la classique image en bouchon de champagne (**Figure 28**), cela signifie que ces souches d'entérobactéries sont productrices des enzymes de β -lactamases à spectre étendue (BLSE).
- L'émergence de la résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii* est devenue une préoccupation mondiale dans la mesure où ces molécules sont souvent le seul traitement efficace contre les souches multi-résistantes (Otéo *et al.*, 2007). Dans ce travail, toutes les souches de *A. baumannii* isolées (**20%** des souches nosocomiales isolées) sont résistantes à l'imipénème.
- Aucune souche (**0%** des souches nosocomiales isolées) de *P. aeruginosa* résistante à la céftazidime n'a été obtenue.

- Enfin, les **10%** restants sont des *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM). Parmi ces dernières, les souches 920 et 222 ont montré une résistance au céfoxitine ce qui caractérise leur résistance à toute la famille des β -lactamines.



Figure 28. Test de synergie positif pour une souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE (L'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques d'AMC et CTX).

Ces constations vont dans le même sens de l'étude de **Chablou (2011)** sur le profil de résistance des germes isolés de patients atteints d'infections nosocomiales réalisée dans un hôpital au Maroc, où il a montré une fréquence élevée des bêta-lactamases à spectre étendu (13,10%).

III.6.4. Confirmation des résultats par MicroScan WalkAway

Les souches bactériennes isolées et identifiées ont fait l'objet d'une confirmation de l'identité et de l'antibiogramme par « WalkAway de Siemens» et les résultats obtenus sont présentés en **annexe 5**.

III.7. Etude des propriétés antagonistes des isolats de cyanobactéries

III.7.1. Poids secs et rendements des extractions

Les neuf souches de cyanobactéries sont mises en culture pour produire des métabolites bioactifs. L'extraction de ces métabolites à partir des biomasses (par le méthanol et l'eau) et des surnageants de cultures (par l'acétate d'éthyle) a permis de calculer le poids sec des extraits et le rendement des extraits des biomasses. Les résultats obtenus sont regroupés dans le **tableau 12**.

Tableau 12. Poids secs et rendements des extraits des isolats de cyanobactéries.

Isolats de cyanobactéries	Extrait méthanolique		Extrait aqueux		Extrait acétate d'éthyle
	Masse (mg)	Rendement d'extraction (%)	Masse (mg)	Rendement d'extraction (%)	Masse (mg)
<i>Leptolyngbya sp1</i>	199	39,8	28,2	5,64	15,2
<i>Leptolyngbya foveolarum</i>	187,7	37,54	19	3,8	14,4
<i>Leptolyngbya boryana</i>	178,8	35,76	7,6	1,52	92,2
<i>Leptolyngbya sp.</i>	181	36,2	12,1	2,42	50,3
<i>Pseudanabaena sp.</i>	218,5	43,7	ND	ND	37,2
<i>Leptolyngbya sp2</i>	212,8	42,56	9,6	1,92	43,9
<i>Limnothrix sp.</i>	149	29,8	4,4	0,88	47
<i>Anabaena sp.</i>	190	38	22,5	4,5	51,8
<i>Geitlerinema sp.</i>	164	32,8	57,8	11,56	44,3

ND : Non Déterminé.

Il ressort des données du tableau 12 que les rendements les plus importants sont enregistrés dans les extraits méthanoliques. Ainsi, les deux cyanobactéries *Pseudanabaena sp.* et *Leptolyngbya sp2* sont les plus riches en substances solubles dans le méthanol. Ces résultats rejoignent ceux trouvés par **Shalaby et Shanab (2013)** qui ont obtenu à partir de la poudre de *Spirulina platensis* (une cyanobactérie filamenteuse) un rendement en extrait méthanolique nettement supérieur à celui de l'extrait aqueux. De plus, les travaux de **Tuyet (2010)** sur 12 souches de cyanobactéries isolées en Vietnam ont montré des rendements en extraits méthanoliques plus élevés que ceux des autres extraits (extraits d'hexane, aqueux et d'acétate d'éthyle). Toutefois, les rendements obtenus dans les deux études citées en dessus sont nettement inférieurs à ceux trouvés dans la présente étude, excepté pour les rendements des extraits aqueux. En effet, il est difficile de comparer les résultats de ce travail avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. D'après **Michel et al. (2012)** et **Mahmoudi et al. (2013)**, les rendements des extractions par différent solvants dépendent de la nature du solvant utilisé, de la méthode d'extraction (macération, décoction, infusion) et de la composition chimique des extraits préparés.

Dans la présente étude, la méthode de macération sous agitation a permis d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bioactivité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite ont permis d'obtenir le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

III.7.2. Teneur des extraits en polyphénols

Les composés phénoliques sont des molécules bioactives très recherchées car ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologiques (antioxydantes, antimicrobiennes...). Pour ces raisons, des dosages des polyphénols totaux ont été effectués pour chaque extrait préparé et ce par une méthode spectrophotométrique, en utilisant l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage, établie en utilisant l'acide gallique comme référence (**Figure 29**).

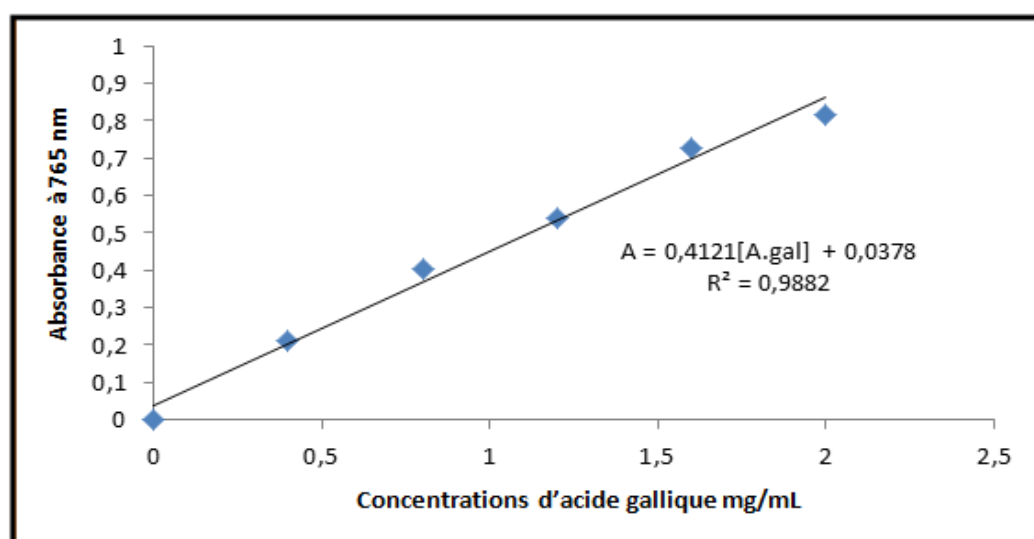


Figure 29. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

L'estimation des teneurs en polyphénols totaux a été réalisée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu et les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau 13**.

Tableau 13. Contenus en polyphénols totaux des extraits des isolats de cyanobactéries.

Isolats de cyanobactéries	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g MS)		
	Extrait méthanolique	Extrait aqueux	Extrait acétate d'éthyle
<i>Leptolyngbya sp1</i>	1,15±0,12	0,93±0,11	5,73±0,67
<i>Leptolyngbya foveolarum</i>	14,33±0,64	10,43±0,33	0,65±0,00
<i>Leptolyngbya boryana</i>	15,43±0,24	4,14±1,73	0,14±0,00
<i>Leptolyngbya sp.</i>	1,89±0,16	0,15 ±0,00	0,69±0,01
<i>Pseudanabaena sp.</i>	0,72±0,01	0,43±0,00	0,15±0,10
<i>Leptolyngbya sp2</i>	1,22±0,10	0,41±0,10	0,55±0,07
<i>Limnothrix sp.</i>	1,96±0,00	1,23±0,00	0,76±0,00
<i>Anabaena sp.</i>	2,77±0,26	0,49±0,01	0,69±0,00
<i>Geitlerinema sp.</i>	12,75±0,20	1,07±0,03	0,44±0,04

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES ($n=3$).

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en polyphénols totaux varient considérablement entre les extraits des différents isolats de cyanobactéries. L'extraction à partir des biomasses avec le méthanol a permis d'obtenir des teneurs en composés phénoliques totaux allant de 0,72±0,01 mg EAG/g MS (*Pseudanabaena sp.*) à 15,43±0,24 mg EAG/g MS (*Leptolyngbya boryana*). Avec de l'eau, les concentrations sont comprises entre 0,15±0,00 mg EAG/g MS (*Leptolyngbya sp.*) et 10,43±0,33 mg EAG/g MS (*Leptolyngbya foveolarum*). Cependant, les extraits d'acétate d'éthyle obtenus à partir des surnageants de cultures se sont révélés moins riches en polyphénols totaux pour la majorité des isolats.

Les teneurs en polyphénols totaux obtenues sont comparables à celles notées par **Hajimahmoodi et al. (2010)** pour les biomasses et les surnageants de cultures de 12 microalgues. En effet, ces auteurs ont trouvé des teneurs en polyphénols totaux variant de 1,00 à 5,26 mg EAG/g MS (extraits aqueux) et de 0,02 à 0,22 mg EAG/g MS (extraits d'acétate d'éthyle). Selon une autre étude menée par **Abd El-Aty et al. (2014)** sur deux cyanobactéries filamenteuses *Oscillatoria agardhii* et *Anabaena sphaerica*, les teneurs en composés phénoliques trouvées dans les extraits méthanoliques et aqueux, préparés à partir des biomasses, sont proches des teneurs obtenues dans le présent travail.

Au vu des résultats précédents, il est également important de signaler que les extraits méthanoliques enregistrent les teneurs en polyphénols totaux les plus élevées (à l'exception de l'extrait méthanolique de *Leptolyngbya sp1*). D'après plusieurs travaux, les extraits méthanoliques sont les plus riches en composés phénoliques. De ce fait le méthanol reste le meilleur solvant pour extraire ces composés (Uma *et al.*, 2011 ; Manivannan *et al.*, 2012 ; Hemalatha *et al.*, 2013 ; Shalaby et Shanab, 2013 ; Abd El-Aty *et al.*, 2014).

III.7.3. Pouvoir antibactérien des extraits

Les extraits aqueux et méthanoliques des substances intracellulaires ainsi que les extraits d'acétate d'éthyle des substances extracellulaires obtenus à partir des isolats de cyanobactéries, ont été testés contre une gamme de souches bactériennes d'infections nosocomiales composée de bactérie à Gram positif (*S. aureus*) et de bactéries à Gram négatif (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* et *P. aeruginosa*).

L'efficacité et la puissance des extraits ont été évaluées qualitativement, par la méthode de diffusion des disques sur gélose. La sensibilité du germe à l'égard de l'extrait est d'autant plus importante que le diamètre de la zone d'inhibition est grand (Andriambololona, 2010).

Les résultats obtenus ont révélé une activité antibactérienne notable des extraits de cyanobactéries contre les souches testées. De plus, l'inactivité du solvant utilisé pour dissoudre les résidus de ces extraits (DMSO) a été vérifiée.

III.7.3.1. Activité antibactérienne des extraits sur *E. coli*

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis des souches d'*E. coli* sont regroupés dans le **tableau 14**.

Tableau 14. Diamètre d'inhibition (mm) des extraits vis-à-vis des souches d'*E. coli* testées.

Isolats de cyanobactéries	Extraits	Diamètres d'inhibition (mm)				
		<i>E. coli</i> 200	<i>E. coli</i> 2104	<i>E. coli</i> 2195	<i>E. coli</i> 2544	<i>E. coli</i> 455
<i>Leptolyngbya sp1</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya foveolarum</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya boryana</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya sp.</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	10,59±0,40	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	9,94±0,09	7,69±0,13	9,69±0,13	6 ± 0	6 ± 0
<i>Pseudanabaena sp.</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	12,59±0,21	9,11±0,06	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya sp2</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	10,6±0,12	8,68±0,01	6 ± 0	6 ± 0	9,79±0,01
<i>Limnothrix sp.</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Anabaena sp</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	10,6±0,12	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Geitlerinema sp.</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0

Chaque valeur représente la moyenne des diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne ± ES (n=3).

Il ressort ainsi, que les souches d'*E. coli* testées sont sensibles aux métabolites extracellulaire de *Leptolyngbya sp.*, *Leptolyngbya sp2*, *Pseudanabaena sp.* et *Anabaena sp.* avec un diamètre d'inhibition maximale de 12,59±0,21 mm. A l'exception de l'extrait aqueux de *Leptolyngbya sp.*, les métabolites intracellulaires des isolats de cyanobactéries sont inactifs sur toutes les souches d'*E. coli* testées.

III.7.3.2. Activité antibactérienne des extraits sur *K. pneumoniae*

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis des souches de *K. pneumoniae* sont résumés dans le **tableau 15**.

Tableau 15. Diamètre d'inhibition (mm) des extraits vis-à-vis des souches de *K. pneumoniae* testées.

Isolats de cyanobactéries	Extraits	Diamètres d'inhibition (mm)			
		<i>K. pneumoniae</i> ₈₄	<i>K. pneumoniae</i> ₃₂₈	<i>K. pneumoniae</i> ₃₇₇	<i>K.pneumoniae</i> ₄₉₉
<i>Leptolyngbya</i> <i>sp1</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya</i> <i>foveolarum</i>	Méthanolique	8,5±0,20	9,88±0,06	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	8,55±0,34	6 ± 0	8,1±0,02	6 ± 0
<i>Leptolyngbya</i> <i>boryana</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya</i> <i>sp.</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Pseudanabaena</i> <i>sp.</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya</i> <i>sp2</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Limnothrix sp.</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Anabaena sp.</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Geitlerinema sp.</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0

Chaque valeur représente la moyenne des diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne ± ES (n=3).

Au vu des résultats du tableau 15, les souches de *K. pneumoniae* sont toutes résistantes aux extraits de cyanobactéries sauf aux extraits de *Leptolyngbya foveolarum*. Les extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle de cette cyanobactérie ont réagi positivement sur la plupart des souches de *K. pneumoniae*, avec des zones d'inhibition maximales de 9,88±0,06 mm pour l'extrait méthanolique et de 8,55±0,34 mm pour l'extrait d'acétate d'éthyle.

III.7.3.3. Activité antibactérienne des extraits sur *P. aeruginosa*

Il a été remarqué que les extraits des substances intracellulaires et extracellulaires des isolats de cyanobactéries n'ont montré aucune activité inhibitrice de la croissance des souches de *P. aeruginosa* testées.

III.7.3.4. Activité antibactérienne des extraits sur *A. baumannii*

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis des souches d'*A. baumannii* sont mentionnés dans le **tableau 16**.

Tableau 16. Diamètre d'inhibition (mm) des extraits vis-à-vis des souches d'*A. baumannii* testées.

Isolats de cyanobactéries	Extraits	Diamètres d'inhibition (mm)			
		<i>A. baumannii</i> 1013	<i>A. baumannii</i> 4127	<i>A. baumannii</i> 385	<i>A. baumannii</i> 362
<i>Leptolyngbya</i> sp1	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya foveolarum</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya boryana</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	11,1±0,00	6 ± 0
<i>Leptolyngbya</i> sp.	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Pseudanabaena</i> sp.	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	10,24±0,04	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	9,87±0,03	6 ± 0	10,06±0,04	6 ± 0
<i>Leptolyngbya</i> sp2	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	10,46±0,06	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	8,46±0,25	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Limnothrix</i> sp.	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	9,37±0,05	10,07±0,17	6 ± 0	7,48±0,12
<i>Anabaena</i> sp.	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Geitlerinema</i> sp.	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0

Chaque valeur représente la moyenne des diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne ± ES (n=3).

La bactérie *A. baumannii* est l'une des bactéries les plus résistantes aux antibiotiques (Peleg *et al.*, 2008). Dans ce travail, les souches d'*A. baumannii* se sont montrées sensibles aux extraits d'acétate d'éthyle de *Leptolyngbya boryana*, *Pseudanabaena* sp. et *Limnothrix* sp. Ainsi, la plus grande sensibilité est enregistrée avec l'extrait de *Leptolyngbya boryana* avec une zone d'inhibition égale à 11,1±0,00 mm.

De même, la souche *A. baumannii* 385 s'avère qu'elle est considérablement sensible aux extraits méthanoliques de *Pseudanabaena* sp. et *Leptolyngbya* sp2 avec des zones d'inhibition atteignant les 10,24±0,04 mm et 10,46±0,06 mm respectivement et à l'extrait aqueux de *Leptolyngbya* sp2 avec une zone d'inhibition de 8,46±0,25 mm. En revanche, ces souches d'*A. baumannii* sont toutes résistantes aux extraits des autres isolats de cyanobactéries.

III.7.3.5. Activité antibactérienne des extraits sur *S. aureus*

Le **tableau 17** présente les résultats de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis des souches de *S. aureus*.

Tableau 17. Diamètre d'inhibition (mm) des extraits vis-à-vis des souches de *S. aureus* testées.

Isolats de cyanobactéries	Extraits	Diamètres d'inhibition (mm)				
		<i>S. aureus</i> 920	<i>S. aureus</i> 496	<i>S. aureus</i> 222	<i>S. aureus</i> 105	<i>S. aureus</i> 190
<i>Leptolyngbya</i> sp1	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya foveolarum</i>	Méthanolique	10,41±0,00	8,59±0,03	6 ± 0	6 ± 0	13,3±0,00
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	9,69±0,12	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya boryana</i>	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya</i> sp.	Méthanolique	9,39± 0,01	9,65±0,00	6 ± 0	6 ± 0	12,24±0,02
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Pseudanabaena</i> sp.	Méthanolique	6 ± 0	9,03±0,09	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	9,5±0,05	9,99±0,07	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>Leptolyngbya</i> sp2	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	10,19±0,11	9,45±0,01	6 ± 0	6 ± 0	9,73±0,08
<i>Limnothrix</i> sp.	Méthanolique	8,9±0,08	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	9,5±0,04	7,7±0,01	6 ± 0	6 ± 0	10,57± 0,00
<i>Anabaena</i> sp.	Méthanolique	18,26±0,13	8,31±0,15	6 ± 0	9,31±0,17	12,49±0,22
	Aqueux	6 ± 0	10,25±0,12	6 ± 0	7,76±0,05	7,6±0,02
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	10,46±0,02
<i>Geitlerinema</i> sp.	Méthanolique	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Aqueux	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
	Acétate d'éthyle	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	24,65±0,38	10,85±0,03

Chaque valeur représente la moyenne des diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne ± ES (n=3).

A l'exception des extraits de *Leptolyngbya sp1* et *Leptolyngbya boryana*, la majorité des extraits des autres isolats de cyanobactéries ont réagi positivement au moins sur une des souches de *S.aureus* testées. Les diamètres des zones d'inhibition sont assez importants, avec un pic de $18,26 \pm 0,13$ mm (*Anabaena sp.* vis-à-vis de *S. aureus* 920) pour les extraits méthanoliques et de $24,65 \pm 0,38$ mm (*Geitlerinema sp.* vis-à-vis de *S. aureus* 105) pour les extraits d'acétate d'éthyle. Quant aux extraits aqueux, seul l'extrait d'*Anabaena sp.* présente une activité vis-à-vis les souches de *S.aureus* testées. Les zones d'inhibition maximales provoquées par les extraits de cyanobactéries sur les souches de *S. aureus* testées sont présentées sur la **figure 30**.

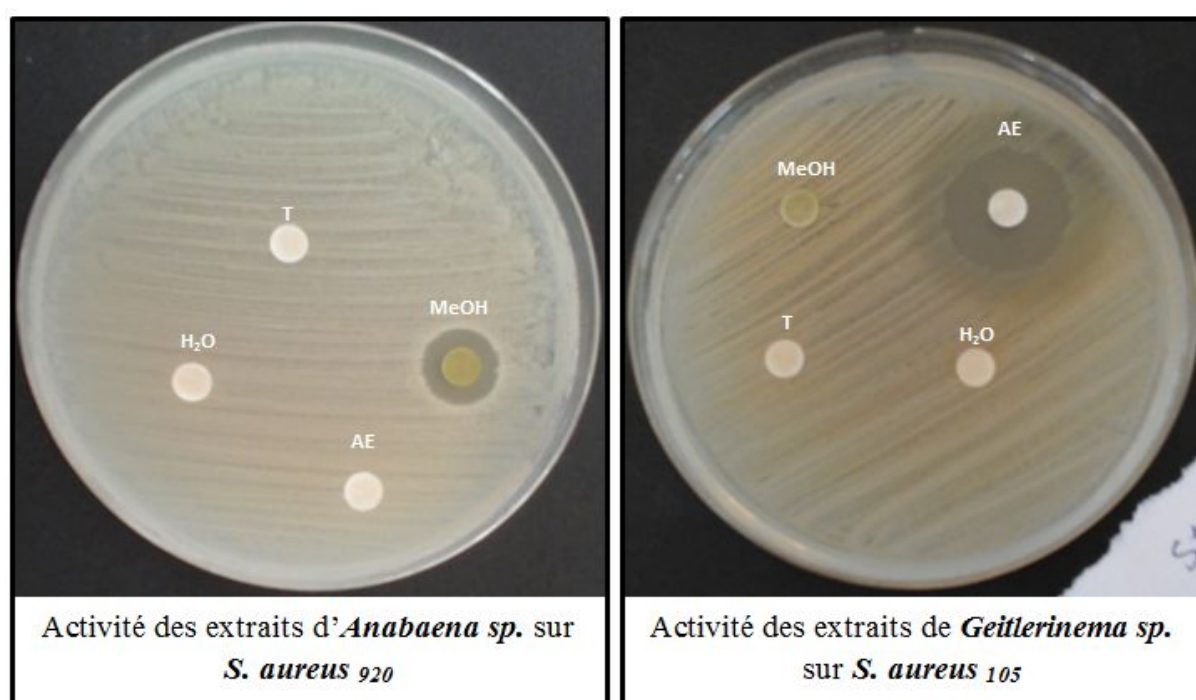


Figure 30. Test d'activité des extraits de cyanobactéries vis-à-vis des souches de *S. aureus* par la technique de diffusion des disques sur gélose (MeOH : extrait méthanolique ; AE : extrait d'acétate d'éthyle ; H₂O : extrait aqueux ; T : témoin).

Les résultats résumés dans les tableaux allant de 14 à 17 montrent que sur les 27 extraits de cyanobactéries étudiés, 17 sont actifs au moins sur une des souches bactériennes testées.

La bactérie *S. aureus* est la plus sensible aux antibactériens produits par les isolats de cyanobactéries. Tandis que, *P. aeruginosa* apparaît comme la bactérie la plus résistante. Ceci n'est pas surprenant car cette espèce est connue pour sa résistance naturelle et acquise à

plusieurs substances antimicrobiennes (**Martin et al., 1993 ; Costerton et al., 1999 ; Stover et al., 2000**).

Les extraits aqueux des substances intracellulaires des isolats de cyanobactéries n'ont pas présenté une importante activité. Une faible inhibition de la croissance d'*E. coli*, d'*A. baumannii* et de *S. aureus* dont les diamètres d'inhibition ne dépassant pas les $10,59 \pm 0,40$ mm est notée pour les extraits aqueux de *Leptolyngbya sp.*, *Leptolyngbya sp2* et *Anabaena sp.*, respectivement. Ceci confirme les résultats de plusieurs auteurs qui ont affirmé que les extraits aqueux des cyanobactéries ont montré une faible activité comparée aux autres extraits (**Østensvik et al., 1998 ; Kreitlow et al., 1999 ; Mundt et al., 2001 ; Abd El-Aty et al., 2014**).

A l'opposé des extraits aqueux, la majorité des extraits méthanoliques des substances intracellulaires des isolats de cyanobactéries sont doués d'une activité antibactérienne vis-à-vis au moins une des souches bactériennes testées avec des diamètres d'inhibition allant jusqu'à $18,26 \pm 0,13$ mm (*Anabaena sp.* vis-à-vis de *S. aureus*₉₂₀). La bactérie *S. aureus* est la plus sensible aux extraits méthanoliques de ces isolats. Les résultats de **Oufdou et Oudra (2009)**, ont montré que les substances intracellulaires extraites par le méthanol à partir de dix souches de cyanobactéries, isolées de certains écosystèmes aquatiques marocains, ont des effets antibactériens plus importants que les extraits aqueux. Dans une autre étude réalisée par **Bhattacharyya et al. (2013)** sur l'activité antibactérienne de deux espèces d'*Anabaena* vis-à-vis de *S. aureus*, il a été démontré que les extraits méthanoliques ont donné des activités plus fortes par rapport aux extraits aqueux, d'hexane et d'acetone. Ces résultats sont en accord avec ceux notés lors de la présente étude.

Les substances extracellulaires produites par les isolats de cyanobactéries ont aussi un effet inhibiteur sur les souches bactériennes testées avec des diamètres d'inhibition atteignant $24,65 \pm 0,38$ mm (*Geitlerinema sp.* vis-à-vis de *S. aureus*₁₀₅). Des résultats similaires ont été signalés par **Kaushik et Chauhan (2008)** et **Tuyet (2010)**. Ces auteurs ont montré que la croissance d'*E. coli* est inhibée par les substances extracellulaires élaborées par des souches de cyanobactéries étudiées : *Anabaena sp.*, *Nostoc spongiaforme*, *Nostoc coeruleum*, *Calothrix javanica*, *Oscillatoria sp.*, *Westiellopsis sp.* VN et *Spirulina platensis*.

D'après les résultats de ce travail, il a été constaté que la nature du solvant influe directement sur la composition des extraits et par conséquent sur leur activité antibactérienne. Ces constats sont confirmés par l'analyse de la variance (ANOVA) qui a révélé une différence significative ($p < 0,05$).

Par ailleurs, il est important de signaler que les souches bactériennes à Gram positif sont plus sensibles aux substances élaborées par les isolats de cyanobactéries que les souches bactériennes à Gram négatif (**Figure 31**). Ce résultat coïncide avec les travaux de **Chrost (1975)** qui décrivent une réduction significative des bactéries Gram positives dans des lacs en Allemagne durant les périodes de blooms cyanobactériens. De plus, cette propriété a déjà été signalée par d'autres chercheurs, tels que **Mundt *et al.* (2001)**, **Soltani *et al.* (2005)**, **Taton *et al.* (2006)** et **Martins *et al.* (2008)**. En effet, les différences morphologiques entre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives pourraient être responsables de leur différence de sensibilité : la structure de la paroi des bactéries à Gram positif, constituée principalement de peptidoglycane, rend ce groupe plus sensible aux extraits. Par contre la paroi des bactéries à Gram négatif est formée d'une couche externe composée d'un complexe lipopolysaccharides, des phospholipides et des protéines. Cette couche est une barrière sélective ce qui les rend moins vulnérables aux extraits que les bactéries à Gram positif (**Dixon *et al.*, 2004 ; Martins *et al.*, 2008**).

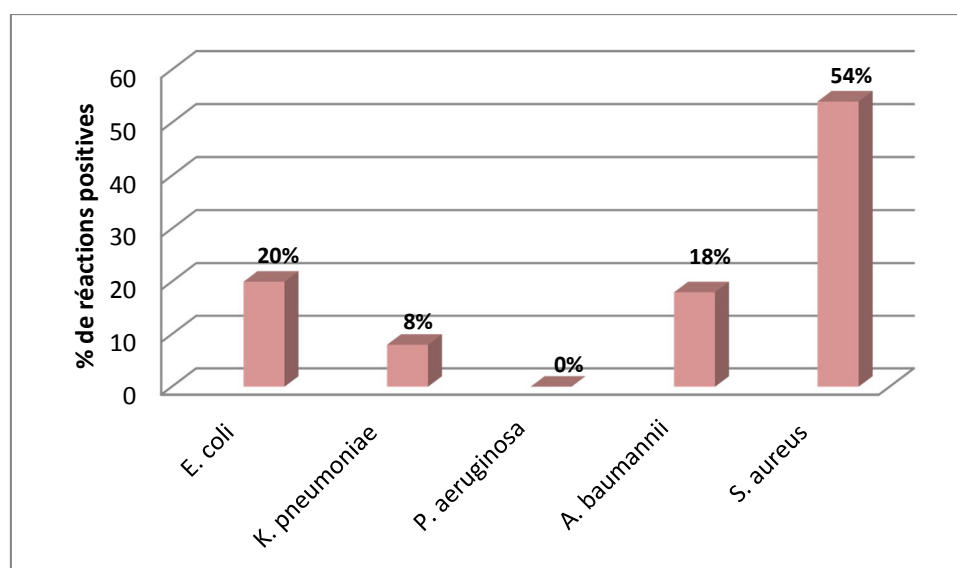


Figure 31. Sensibilité des bactéries testées.

L'évaluation de l'effet antibactérien des extraits de cyanobactéries a permis également de faire un criblage des cyanobactéries présentant une quelconque activité. Au total, sur les neuf isolats de cyanobactéries huit ont présenté une activité antibactérienne, alors que la cyanobactérie restante à savoir *Leptolyngbya sp1*, n'a pas montré d'activité sur toutes les souches bactériennes testées. Dans des études précédentes, il a été démontré que le taux d'isolement des cyanobactéries productrices de substances antibactériennes en Iran est de 22,4% : 17 souches actives sur 76 (**Soltani *et al.*, 2005**) et dans d'autres au Maroc est de

70 % : 7 souches actives sur 10 (Oufdou et Oudra, 2009). Alors que, Tuyet (2010) en Vietnam a montré que toutes les souches de cyanobactéries isolées (12 souches) sont actives au moins sur une des bactéries tests étudiées. Dans cette étude, le taux d'isolement des cyanobactéries à activité antibactérienne était de 88,8 %.

Par ailleurs, *Anabaena sp.* est la cyanobactérie la plus active, elle est responsable de 18% des réactions positives, suivie de *Leptolyngbya foveolarum*, *Pseudanabaena sp.* et *Leptolyngbya sp2* responsables de 16% des réactions positives pour chacune. *Leptolyngbya sp.* et *Limnothrix sp.* interviennent avec 14% pour chacune et finalement *Geitlerinema sp.* et *Leptolyngbya boryana* sont responsables de 4% et 2% des réactions positives, respectivement (Figure 32).

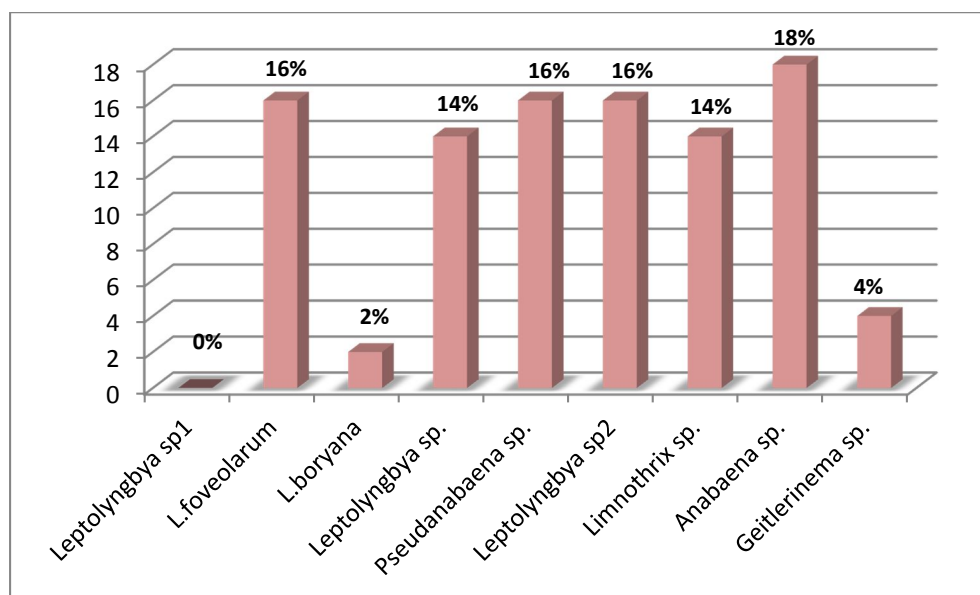


Figure 32. Pourcentage des réactions positives des isolats de cyanobactéries.

Parmi les isolats de cyanobactéries doués d'activité antibactérienne, cinq (*Leptolyngbya foveolarum*, *Leptolyngbya sp.*, *Leptolyngbya sp2*, *Pseudanabaena sp.* et *Anabaena sp.*) ont un large spectre d'action en inhibant la croissance des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Les deux isolats *Leptolyngbya boryana* et *Geitlerinema sp.* ont un spectre étroit limité seulement à un groupe de bactéries.

III.8. Identification moléculaire

III.8.1. Amplification du gène de 16S rRNA

Parmi les isolats de cyanobactéries présentant un potentiel antibactérien intéressant, deux souches « **D2O** et **D8O** » ont été retenues pour une éventuelle identification moléculaire. A cet effet, la région d'ADN codante pour la sous unité ribosomale 16S rRNA est amplifiée par la technique de la PCR. Les fragments amplifiés obtenus sont séparés selon leur poids moléculaire par électrophorèse sur gel d'agarose. Les résultats de la comparaison des fragments d'ADN amplifiés avec le marqueur de taille ont montré que la taille de ces fragments avoisine les 1500 pb (**Figure 33**).

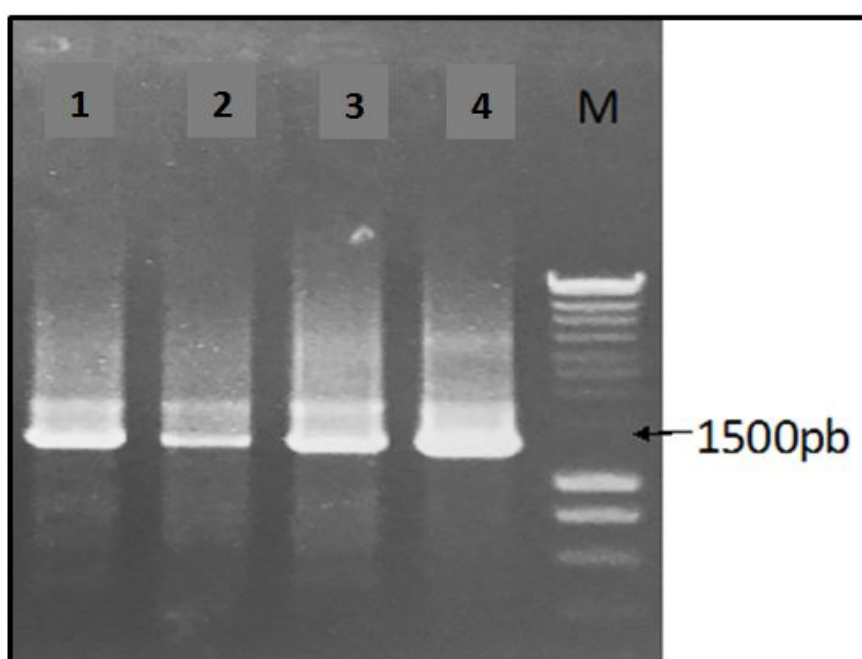


Figure 33. Electrophorèse sur gel d'agarose des fragments d'ADN amplifiés, codant le gène de 16S rRNA des souches **D2O** et **D8O** avec deux répétitions pour chaque.

*Puits M : Marqueur de taille 3kb; Puits 1et 2 : ADN amplifié codant le gène de 16S rRNA de la souche **D8O** ; Puits 3et 4 : ADN amplifié codant le gène de 16S rRNA de la souche **D2O**.*

III.8.2. Séquençage, correction et assemblage des gènes amplifiés

Les séquences de la région d'ADN codante pour la sous unité ribosomale 16s brutes obtenues sont corrigées et assemblées afin d'obtenir les séquences consensus (**Annexe 6**). Ces dernières sont publiées dans la base de données Genbank afin d'avoir des numéros d'accessions. La comparaison avec la totalité des séquences nucléotidiques indexées dans la

base de données NCBI, a permis d'établir l'identité des deux souches étudiées et l'indication du degré d'homologie (**Tableau 18**).

Tableau 18. Présentation des numéros d'accèsion, le pourcentage de similarité et l'identité de deux souches de cyanobactéries présentant un potentiel antibactérien intéressant.

La souche	Numéro d'accèsion	L'identité de la souche	La similarité
D2O	AJ639893	<i>Leptolyngbya sp. 0BB24S04</i>	98%
D8O	LN849922	<i>Leptolyngbyaceae LD4 4600 EK</i>	98%

La taxonomie traditionnelle basée sur les descriptions morphologiques et l'origine écologique a conduit à de nombreuses erreurs d'identification chez les cyanobactéries. De ce fait, l'application de la génétique moléculaire chez ce groupe de bactéries est une aide majeure pour identifier et reconstruire les parentés phylogénétiques (**El Herry, 2008**).

Le séquençage du gène codant la sous-unité 16S rRNA offre un outil de choix pour l'identification génétique des bactéries, car cette région persiste très stable et à l'abri des mutations (**Emanuel et Lorrence, 2009**). Avec l'accumulation des données indispensables sur ce gène et leur publication dans les banques de données, la notion des amorces universelles de la région 16S rRNA est engendrée (**Arzu et al., 2011**).

Dans cette étude, les résultats d'identification par amorces universelles obtenus ont montré l'appartenance des deux souches **D2O** et **D8O** au phylum *Cyanobacteria*, à l'ordre des *Synechococcales* et à la famille des *Leptolyngbyaceae*.

Le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S de l'isolat **D2O** a permis d'obtenir une séquence de 1474 pb. L'alignement de cette séquence avec les autres séquences disponibles dans la base de données génomiques, puis la réalisation du blast, a permis de rattacher cet isolat à l'espèce *Leptolyngbya sp.* avec un pourcentage d'homologie de 98%. Concernant la souche **D8O**, cet isolat a présenté une séquence du gène codant pour l'ARNr 16S de 1359 pb. Les analyses de similitude effectuées n'ont pas permis de rapprocher cet isolat à aucune espèce de cyanobactéries connue (unclassified *Leptolyngbyaceae*). Ce résultat est probablement dû à l'isolat D8O qui correspond à une nouvelle espèce de la famille des *Leptolyngbyaceae*, ou bien au nombre insuffisant de séquences des gènes codant la sous unité 16S rRNA correspondantes au cyanobactéries disponibles dans la base de données.

En se basant sur les clés de la classification des Cyanophytes de **Komàrek et Anagnostidis (2005)**, il en ressort que l'espèce *Leptolyngbya sp.* est classée dans la famille

des *Pseudanabaenaceae* et l'ordre des *Oscillatoriales*. En revanche, les données fournies par l'analyse de séquences de l'ARNr16S ont montré l'appartenance de cette espèce à la famille des *Leptolyngbyaceae* et l'ordre des *Synechococcales*. Cette confusion entre la classification traditionnelle et moléculaire est déjà signalée par **Castenholz (2001)**. Cet auteur a révélé que les classifications phylogénétiques chez les cyanobactéries sont encore assez controversées. En effet, la plupart des bactéries de ce groupe n'ont pas encore un nom bactériologique valide, ni encore une phylogénie reconnue. En outre, la taxonomie phylogénétique des cyanobactéries se trouve heurté à un manque de séquences puisque 101 genres seulement ont leur ARNr16S séquencés (**Schirrmeister et al., 2011**).

CONCLUSION

Le présent travail porte sur l'isolement des souches de cyanobactéries à partir de certains écosystèmes aquatiques algériens, le criblage de l'effet antibactérien de leurs substances bioactives vis-à-vis de certaines bactéries d'infections nosocomiales ainsi que l'identification moléculaire des isolats ayant montré une bonne activité antibactérienne.

L'utilisation du milieu de culture BG11 additionné d'agent sélectif a permis l'isolement de neuf isolats différents de cyanobactéries à partir de six échantillons d'eau issus des régions de Sidi Bel Abbès et de Tlemcen. L'identification morphologique des isolats a révélé leur appartenance aux genres : *Leptolyngbya*, *Limnothrix*, *Geitlerinema*, *Pseudanabaena* et *Anabaena* avec la dominance du genre *Leptolyngbya*.

Sur le plan phytochimique, les souches de cyanobactéries isolées se sont montrées riches en métabolites secondaires notamment, les flavonoïdes, les tannins et les alcaloïdes.

Bien que la phycocyanine semble être la principale phycobiliprotéine dans la plupart des isolats, l'espèce *Limnothrix sp.* est montrée riche en chlorophylle *a*.

Par ailleurs, l'activité antibactérienne est évaluée sur des souches d'infections nosocomiales isolées à partir de prélèvements issus de patients hospitalisés au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire d'Oran. L'utilisation des tests biochimiques, suivie d'une confirmation par MicroScan WalkAway System a permis d'identifier vingt souches appartenant aux espèces suivantes : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

A l'issue de ce test, huit isolats de cyanobactéries (soit environ 88 %) parmi les neuf étudiés, ont produit des substances bioactives qui présentent une activité antibactérienne vis-à-vis de bactéries isolées. Les substances intracellulaires extraites par le méthanol et les substances extracellulaires ont présenté l'effet inhibiteur de la croissance le plus important à l'égard d'*E. coli*, de *K. pneumoniae*, d'*A. baumannii* et de *S. aureus*. Les souches de *P. aeruginosa* sont les plus résistantes aux extraits cyanobactériens.

La souche *Anabaena sp.* (D11M) est la cyanobactérie la plus active, elle est responsable de 18% des réactions positives, suivie de *Leptolyngbya foveolarum* (D2O), *Pseudanabaena sp.* (D6O) et *Leptolyngbya sp2* (D8O), responsables chacune de 16% des réactions positives.

Parmi les isolats de cyanobactéries présentant un potentiel antibactérien intéressant, deux souches « D2O et D8O » ont fait l'objet d'une identification moléculaire. Les résultats de cette identification ont montré l'appartenance de ces deux cyanobactéries à la famille des *Leptolyngbyaceae*. Le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S de l'isolat D2O a permis de rattacher cet isolat à l'espèce *Leptolyngbya sp.* avec un pourcentage d'homologie de 98%.

Concernant la souche D8O, les analyses de similitude effectuées n'ont pas permis de rapprocher cet isolat à aucune espèce de cyanobactéries connue (unclassified *Leptolyngbyaceae*). Il semble donc très plausible, que l'isolat D8O soit une nouvelle espèce de la famille des *Leptolyngbyaceae*.

Les résultats obtenus dans cette étude sont d'une grande importance, ils peuvent contribuer à renforcer et à enrichir le pauvre arsenal antibiotique qui existe à ce jour. Cependant, des études approfondies doivent compléter ce travail à savoir :

- L'étude structurale et l'identification complète de chacune des molécules bioactives produites par le biais des techniques chromatographiques et spectrométriques notamment les spectres RMN et la spectrométrie de masse en tandem couplée à la chromatographie liquide (LC-MS/MS).
- L'optimisation des paramètres culturels afin d'améliorer la production d'antibiotiques.
- La réalisation des tests génétiques plus rigoureux comme l'hybridation ADN/ADN pour pouvoir proposer la souche D8O comme étant nouvelle.
- La poursuite de la recherche de nouvelles souches appartenant aux cyanobactéries à partir des écosystèmes originaux (sebkha, sources thermales, surfaces rocheuses de régions désertiques ...).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abd El-Aty A. M., Mohamed A. A., Samhan F. (2014).** *In Vitro* Antioxidant and Antibacterial Activities of Two Fresh Water Cyanobacterial Species, *Oscillatoria agardhii* and *Anabaena sphaerica*. J. App. Pharm. Sci., 4(07): 069-075.
- Adams D. G., Duggan P. S. (2008).** Cyanobacteria-bryophyte symbioses. J. Exp. Bot., 59(5): 1047-1058.
- Addoubiani E. (2008).** L'observance de l'hygiène des mains en pratique des soins : Facteurs influençant. Cas de l'hôpital Ibn Sina. Mémoire pour l'obtention du Diplôme du 2^{ème} cycle des EPM.
- Afssa/Afsset. (2006).** Rapport sur l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives. 232.
- Agouni M. (2013).** Caractérisation physico-chimiques et étude des Cyanobactéries dans le barrage d'Ain El Dalia (Région de Souk Ahras). Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister. Université de Souk Ahras, Algérie, 100.
- Aissani B. (2003).** Inventaire des cyanoprocaryotes dans le barrage de hammam Dbagh. Diplôme d'ingénieur d'état en Sciences de la Mer. Option en aquaculture. Université d'Annaba, Algérie.
- Alilou H. (2012).** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens subsp. odoratus (Schousb.) Greuter* et *Asteriscus imbricatus (Cav.) DC.* Thèse de doctorat. Faculté des Sciences. Université IBN ZOHR, Agadir, Maroc, 215.
- Allegranzi B., Bagheri Nejad S., Combescure C., Graafmans W., Attar H., Donaldson L., Pittet D. (2011).** Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. Lancet, 377 (9761): 228-241.
- Allenet B., Lebrun T. (2000).** Impact économique et de la santé publique des infections nosocomiales. Inter. bloc., 19 : 141-144.
- Amarouche-Yala S. (2015).** Contribution à l'étude de la diversité cyanobactérienne des eaux et des concrétions calcaires des sources thermales. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Abderrahmane MIRA, Béjaia, Algérie.
- Amazian K., Rossello J., Castella A., Sekkat S., Terzaki S., Dhidah L., Abdelmoumène T., Fabry J., les membres du réseau NosoMed. (2010).** Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. East. Mediterr. Health J., 16: 1070-1078.
- Anagnostidis K., Komarek J. (1988).** Modern approach to the classification system of Cyanophytes 3-*Oscillatoriales*. Arch. Hydrobiol./Algol. Stud., 50-53: 327-472.

- Anagnostidis K., Komarek J. (1990).** Modern approach to the classification system of Cyanophytes 5-*Stigonematales*. Arch. Hydrobiol./Algol. Stud., 59: 1-73.
- Andremont A. (1997).** La lettre du C. Clin: Epidémiologie des bactéries multirésistantes au sein de l'hôpital Bichat-Claude Bernard.
- Andriambololona T. (2010).** Etude biologiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques *cas de la forêt d'Ankafobe*. Mémoire de recherche pour l'obtention du diplôme d'études approfondies de biochimie. Faculté des Sciences. Université d'Antananarivo, Madagascar, 96.
- Arzu C. C., Nilgun T., Birgul O., Cumhur C. (2011).** The genetic diversity of genus *Bacillus* and the related genera revealed by 16S rRNA gene sequences and ardra analyses isolated from geothermal regions of Turkey. Braz. J. Microbiol., 43(1): 309-324.
- Aychunie S. (1996).** Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis* (*Arthospira platensis*). International Association of Applied Algology, 7th International Conference.
- Babayi H., Kolo I., Okogum J. I. (2004).** The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic micro-organisms. Biochemistri, 16(2): 102-105.
- Ballal M. (2005).** Screening of medicinal plants used in Rural Indian Folk medicine for treatment of diarrhea.
- Banker R., Carmeli S., Hadas O., Teltsch B., Porat R., Sukenik A. (1997).** Identification of cylindrospermopsin in *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanophyceae) isolated from Lake Kinneret, Israel. J. Phycol., 33: 613-616.
- Banker R., Teltsch B., Sukenik A., Carmeli S. (2000).** 7-Epicylindrospermopsin, a toxic minor metabolite of the cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* from lake Kinneret, Israel. J. Nat. Prod., 63: 387-389.
- Barbut F., Mastrantonio P., Delmée M., Brazier J., Kuijper E., Poxton I., European Study Group on *Clostridium difficile* (ESGCD). (2007).** Prospective study of *Clostridium difficile* infections in Europe with phenotypic and genotypic characterization of the isolates. Clin. Microbiol. Infect., 13: 1048-1057.
- Bennett A., Bogorad L. (1973).** Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. J. Cell. Biol., 58(2): 419-435.

- Bensdira E. (2000).** Les Cyanoprocaryotes dans le barrage de hammam Dbagh. Approche taxonomique et distribution spatio-temporelle. Diplôme d'ingénieur d'état en Sciences de la Mer. Option en Aquaculture. Université d'Annaba, Algérie, 31.
- Berche P., Gaillard J. L., Simonet M. (1991).** Les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. Bactériologie des infections humaines de la biologie à la clinique. Paris : Flammarion, 64-71.
- Berriah C. (2013).** Tlemcen-Cascades d'El Ourit : Une merveille de la nature. *El Watan*. 13/09/13. Disponible sur : http://www.vitamedz.org/tlemcen-cascades-d-el-ourit/Photos_362_182627_13_1.html
- Bhattacharyya S., Deep P. R., Nayak B., Panigrahi M., Mohapatra B. (2013).** Antimicrobial activity of two diazotrophic Cyanobacteria against *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Med. Aromat. Plants*, 3: 283-292.
- Boizot N., Charpentier J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'INRA, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. 79-82.
- Bonilla S. (2008).** Distribution et succès des cyanobactéries dans le monde: généralités et particularités. Conférence présentée par Sylvia Bonilla, professeure, Universidad de la Republica, Uruguay au COLLOQUE "Les cyanobactéries: mieux connaître pour mieux gérer" (24 janvier 2008).
- Bonjouklian R., Smitka T. A., Doolin L. E., Molloy R. M., Debono M., Shaffer S. A., Moore R. E., Stewart J. B., Patterson G. M. L. (1991).** Tjipanazoles, new antifungal agents from the blue-green alga *Tolypothrix tjipanasensis*. *Tetrahedron*, 47:7739-7750.
- Borowitzka M. A. (1988a).** Vitamins and fine chemicals from micro-algae. In: Borowitzka M. A., Borowitzka L. J., Eds, *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 211-217.
- Borowitzka M. A. (1988b).** Fats, oils and hydrocarbons. In: Borowitzka M. A., Borowitzka L. J., Eds, *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 257-287.
- Borowitzka M. A. (1995).** Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. *J. Appl. Phycol.*, 7 : 3-15.
- Boulesnane N., Chaibi R. (2002).** Les Cyanophycées dans un plan d'eau douce : le lac Oubeira ; inventaire et dynamique. Mémoire d'ingénieur d'état en Sciences de la Mer. Option en aquaculture. Université d'Annaba, Algérie, 60.

- Bourrelly P. (1985).** Les Algues d'eau douce. Initiation à la Systématique. Tome III : Les Algues bleues et rouges. 5^{ème} Partie : les Algues bleues ou Cyanophycées. Collection Faunes et Flores Actuelles, édition Boubée, France, 285-453.
- Boussaber E., Kadmiri I. M., Hilali L., Hilali A. (2012).** Comparaison de l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes isolées de milieux variés. Science Lib. Editions Mersenne, 4: 1-21.
- Boussiba S., Richmond A. (1979).** Isolation and purification of phycocyanins from the blue green alga *Spirulina platensis*. Arch. Microbiol., 120: 155-159
- Bouvet P. J. M., Grimont P. A. D. (1989).** *Acinetobacter*. In : Le MINOR L. et VERON M., eds. Bactériologie Médicale. Paris : Flammarion, 599-604.
- Boyd M. R., Gustafson K. R., Mc Mahon J. B., Shoemaker R. H. (1997).** Discovery of cyanovirin-N, a novel human immunodeficiency virus-inactivating protein that binds viral surface envelope glycoprotein gp 120: potentiel applications to microbicide development. Antimicrob. Agents Chemother., 41 : 1521-1530.
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Médicales Internationales, Paris, 1120.
- Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales. 4^{ème} Edition. Lavoisier Technique & Documentation, Paris.
- Bruno de Reviers. (2003).** Biologie et phylogénie des algues. Tome 2, Belin (Belin Sup Sciences), Paris, 256.
- Bujard E., Braco U., Mauron J., Mottu F., Nabholz A., Wuhrmann J. J., Clément G. (1970).** Composition and Nutritive Value of Blue Green Algae (*Spirulina*) and their Possible Use in Food Formulations. 3rd. international Congress of Food Science and Technology, Washington.
- Bush K., Jacoby G. A., Medeiros A. A. (1995).** A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob. Agents Chemother., 39: 1211-1233.
- Cammack R., Atwood T., Campbell P., Parish H., Smith A., Vella F., Stirling J. (2008).** Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology. Second Edition (Oxford: Oxford University Press).
- Cano M. S., Caire G. Z., Mule C. Z., Halperin D. R. (1986).** Growth control of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* by *Nostoc muscorum*. Phyton, 46: 153-156.
- Cardellina J. H., Marner F. J., Moore R. E. (1979).** Seaweed dermatitis, structure of lyngbyatoxin A. Science, 204: 193-195.

- Carmichael W. W., Mahmood N., Hyde E. G. (1990).** Natural toxins from cyanobacteria (Blue-green algae). In *Marine Toxins: origin, structure and molecular pharmacology* Shervrood Hall and Gary Strickland. Eds: ACS symposium series: 418 American chemical societies, Washington, 87-106.
- CASFM [Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie]. (2010).** Recommandations 2010 (Edition de Janvier 2010).
- Castenholz R. W., Waterbury J. B. (1989).** Oxygenic photosynthetic bacteria. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. (Henzyl WR, ed). Williams and Wilkins, Baltimore, MD, 1710-1727.
- Castenholz R. W. (2001).** Phylum BX. Cyanobacteria. Oxygenic Photosynthetic Bacteria. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 1: The Archaea and the Deeply Branching and Phototropic Bacteria. Second Edition. G. Garrity, D. R. Boone, and R. W. Castenholz (eds.) Springer-Verlag, New York.
- Castets A. M., Houmard J., Tandeau de Marsac N. (1986).** Is cell motility a plasmid encoded function in the cyanobacterium *Synechocystis* 6803? FEMS Microbiol. Lett., 37: 277-281.
- Celiktas O. Y., Bedir E., Vardar Sukan F. (2007).** In vitro antioxidant activities of *Rosmarinus binus* L. seed oil: a potential solvent-free and high antioxydative edible oil. Food chemistry, 6: 1291-1296.
- Chablou M. (2011).** Les infections nosocomiales au service de réanimation polyvalente de Fès. Thèse de Doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès, Maroc, 94.
- Chader S., Touzi A. (2001).** Biomasse Algale : Source Energétique et Alimentaire. Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation-Biomasse, 47-50.
- Charlemagne D. (2008).** La spiruline : aliment santé ? Dijon. Disponible sur : http://www.spirulineaquitaine.com/References/memoire_diu.pdf.
- Charpy L., Langlade M. J., Vicente N. (2004).** Résumé. Colloque international : «Les Cyanobactéries pour la Santé, la Science et le Développement». Îles des Embiez (Var), France, 1-6.
- Charpy L., Langlade 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, 67.

- Chlipala G., Shunyan Mo., Esperanza J., Carcache de Blanco., Aiko Ito., Bazarek S., Orjala J. (2009).** Investigation of antimicrobial and protease-inhibitory activity from cultured cyanobacteria. *Pharmaceutical Biology*, 47: 53-60.
- Chorus I., Bartram J. (1999).** Toxic Cyanobacteria in Water: a Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management. E & FN Spon, London, 416.
- Chow T. J., Su H. Y., Tsai T. Y., Chou H. H., Lee T. M., Chang J. S. (2015).** Using recombinant cyanobacterium (*Synechococcus elongatus*) with increased carbohydrate productivity as feedstock for bioethanol production via separate hydrolysis and fermentation process. *Bioresour. Technol.*, 184:33-41.
- Chrost R. J. (1975).** Inhibitors produced by algae as an ecological factor affecting bacteria in water ecosystems. *Acta Microbiol. Pol. Ser B.*, 7(2): 125-133.
- Claus E. P. (1956).** Pharmacognosy, 3rd ed. Henry Kimpton, London, 326.
- Clément G., Giddey C., Menzi R. (1967).** Amino Acid Composition and Nutritive Value of the Alga *Spirulina maxima*. *J. Sci. Fd. Agric.*, 18: 497-501.
- Clément G. (1975).** Production and characteristic constituents of the algae *Spirulina platensis* and *maxima*. *Ann. Nutr. Alim.*, 29: 477-488.
- CLSI [Clinical and Laboratory Standards Institute]. (2001).** Development of *In vitro* Susceptibility testing Criteria and Quality Control Parameters; Approved Guideline-Second Edition.
- CLSI [Clinical and Laboratory Standards Institute]. (2011).** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 21st informational supplement.
- Costerton J. W., Stewart P. S., Greenberg E. P. (1999).** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284 (5418): 1318-1322.
- Couté A., Bernard C. (2001).** Les cyanobactéries toxiques. Les toxines d'algues dans l'alimentation. Edité par Frémy J. M. & Lassus P. Plouzané, Editions Ifremer, 21-37.
- Da Silva E. J. A., Oliveira A. B., Lapa A. J. (1994).** Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 46(2) : 118-122.
- De Cano M. M. S., De Mulé M. C. Z., De Caire G. Z., De Halperin D. R. (1990).** Inhibition of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* by phenolic compounds from the terrestrial cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *J. Appl. Phycol.*, 2: 79-81.
- Dehbi-Zebboudj A., Djouad S., Sayad A., Ait Meziane H. (2013).** Vulnérabilité de lagune Tamelaht (Bejaia) face au développement des cyanobactéries. *Larhyss Journal*, 95-107.

- Delarras C. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire : Recherche de bactéries et de levures-Moisissures. Editions Lavoisier.
- Diallo D. (2000).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetica* (Meliaceae). Thèse de doctorat. Lausanne, 148-176.
- Didrak M. (1999).** Antimicrobial activities of the extracts of various plants (Valex, Mimosa bark, Gallnut powders, *Salvia sp.*, and *Phlomis sp.*). Journal of biology, 23: 241-248.
- Dillon J. G., Miller S., Bebout B., Hullar M., Pinel N., Stahl D. A. (2009).** Spatial and temporal variability in a stratified hypersaline microbial mat community. FEMS Microbiol. Ecol., 68(1): 46-58.
- Dixon R. A., Al-Zazawi M., Alderson G. (2004).** Permeabilising effects of sub-inhibitory concentrations of microcystin on the growth of *Escherichia coli*. FEMS Microbiol. Lett., 230: 167-170.
- Douglas M. W., Lum G., Roy J., Fisher D. A., Anstey N. M., Currie B. J. (2004).** Epidemiology of community-acquired and nosocomial bloodstream infections in tropical Australia: a 12-month prospective study. Trop. Med. Intern. Health, 9(7): 795-804.
- Ducel G., Fabry J., Nicolle L. (2002).** Prevention of Hospital-acquired infections: a practical guide (2nd ed). 12.
- ECDC [European Centre for Disease Prevention and Control]. (2008).** Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2008: Report on the state of communicable diseases in the EU and EEA/EFTA countries, Stockholm.
- ECDC [European Centre for Disease Prevention and Control]. (2010).** Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2010, Stockholm.
- El Hamzaoui S., Benouda A., Allali F., Abouqual R., Elouennass M. (2009).** Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated in two university hospitals in Rabat, Morocco. Med. Mal. Infect., 39: 891-895.
- El Herry S. (2008).** Biodiversité en cyanobactéries toxiques dans la retenue du barrage Lebna (Tunisie). Caractérisations morphologique et moléculaire et évaluation du potentiel toxique des différentes morphoespèces du genre *Microcystis spp.* isolées des divers plans d'eau en Algérie et en Tunisie. Thèse du doctorat. Université Paris-Sud 11 et Institut National Agronomique de Tunisie, 244.

- El Marfi A. (2014).** Les infections nosocomiales au service de réanimation polyvalente A1 CHU Hassan II Fès. Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Fès, Maroc, 127.
- El Semary N. A., Abd El Naby M. (2010).** Characterization of a *Synechocystis* sp. From Egypt with the potential of bioactive compounds production. World J. Microbiol. Biotechnol., 26(6):1125-1133.
- Emanuel G., Lorrence H. G. (2009).** Practical handbook of microbiology. CRC press,USA, 13: 978-0-8493-9365-5.
- Faizi S., Khan R. A., Azher S., Khan S. A., Tauseef S., Ahmad A. (2003).** New antimicrobial alkaloids from the roots of *Polyalthia longifolia* var. *pendula*. Planta Medica, 69: 350-355.
- Falquet J., Hurni J. P. (2006).** Spiruline : aspects nutritionnels. Antenna Technologies. 41.
- Fay P., Van Baalen C. (1987).** The Cyanobacteria. Elsevier, Amsterdam, 534.
- Ferris M. J., Hirsch C. F. (1991).** Method for isolation and purification of cyanobacteria. Appl. Environ. Microbiol., 57(5): 1448-1452.
- Flores E., Herrero A. (2010).** Compartmentalized function through cell differentiation in filamentous Cyanobacteria. Nature rev. Microbiol., 8(1) : 39-50.
- Fox R. D. (1999).** Spiruline, Technique pratique et promesse. Aix en Provence: Edisud.
- Franck R. (2002).** Analyse des eaux-Aspects réglementaires et techniques. Edition Scérén CRDP AQUITAINE, Bordeaux, 165-239.
- Galati E. M., Monforte M. T., Kirjavainen S., Forestieri A. M., Trovato A., Tripodo M. M. (1994).** Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): anti-inflammatory and analgesic activity. Farmaco, 40(11): 709-12.
- Garnier F., Denis F. (2007).** Bactériologie médical : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson, 29(251) : 254.
- Glazer A. N. (1982).** Phycobilisomes : structure and dynamics. Annu. Rev. Microbiol., 36 : 173-198.
- Google Maps. (2017).** Disponible sur : <https://www.google.dz/maps/@28.0948735,1.6661938,5z>
- Guérin M. N., Gouyon J. B. (1993).** Les infections nosocomiales néonatales. La Lettre de l'Infectiologue, 8 : 519-526.

- Guillou A., Hupé A., Viel G., Blouin F., St-Pierre J. A. (2006).** Etude d'opportunité des biotechnologies marines sur la production et l'utilisation des microalgues. Rapport commandité par la SODIM, 292.
- Guignard J. (1996).** Biochimie végétale. Ed. Lavoisier, Paris, 175-192.
- Hagmann L., Juttner F. (1996).** Fischerellin A, a novel photosystem II-inhibiting allelochemical of the cyanobacterium *Fischerella muscicola* with antifungal and herbicidal activity. Tetrahedron Lett., 37: 6539-6542.
- Hajimahmoodi M., Faramarzi M. A., Mohammadi N., Soltani N., Oveisi M. R., Nafissi-Varcheh N. (2010).** Evaluation of antioxidant properties and total phenolic contents of some strains of microalgae. Journal of Applied Phycology, 22: 43-50.
- Harborne J. B., (1998).** Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition.
- Harborne J. B., Williams C. A. (2000).** Flavonoids in the seed of *Argemone Mexicana*. Phytochemistry, 55: 481-504.
- Hawkins P. R., Runnegar M. T .C., Jackson A. R. B., Falconner I. R. (1985).** Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju isolated from a domestic water supply reservoir. Appl. Environ. Microbiol., 50:1292-1295.
- Hemalatha A., Girija K., Parthiban C., Saranya C., Anantharaman P. (2013).** Antioxidant properties and total phenolic content of a marine diatom *Navicula clavata* and green microalgae, *Chlorella marina* and *Dunaliella salina*. Advances in Applied Science Research, 4(5): 151-157.
- Herdman M., Janvier M., Rippka R., Stanier R. Y. (1979a).** Genome size of cyanobacteria. J. Gen. Microbiol., 111: 73-85.
- Herdman M., Janvier M., Waterbury J. B., Rippka R., Stanier R. Y., Mandel M. (1979 b).** Deoxyribonucleic acid base composition of cyanobacteria. J. Gen. Microbiol., 111: 63-71.
- Heyduck-Söller B., Fisher U. (2000).** Extracellular cyanobacterial substances inhibit microbial growth. Int. Microbiol., 3: 231-234.
- Hidron A. I., Edwards J. R., Patel J., Horan T. C., Sievert D. M., Pollock D. A., Fridkin S. K., National Healthcare Safety Network Team, Participating National Healthcare Safety Network Facilities. (2008).** NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the

National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, 29(11): 996-1011.

Hoiczyk E., Baumeister W. (1995). Envelope structure of four gliding filamentous cyanobacteria. *J. Bacteriol.*, 177: 2387-2395.

Hoiczyk E. (2000). Gliding motility in Cyanobacteria: observations and possible explanations. *Arch. Microbiol.*, 174: 11-17.

Hoiczyk E., Hansel A. (2000). Cyanobacterial Cell Walls: News from an Unusual Prokaryotic Envelope. *J. Bacteriol.*, 182 (5):1191-1199.

Horan T. C., Andrus M., Dudeck M. A. (2008). CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am. J. Infect. Control.*, 36(5): 309-332.

Hudson B. J. F., Karis I. G. (1974). The lipids of the alga *Spirulina*. *J. Sci. Food Agric.*, 25: 759-763.

Hygis N. (1998). Hygiène hospitalière ; Manuel de lutte contre l'infection nosocomiale. Ed. C & R La M Madeleine, 411.

Ikawa M., Haney J. F., Sasner J. J. (1996). Inhibition of *Chlorella* growth by the lipids of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Hydrobiol.*, 331: 167-170.

Issa A. A., Abd-Alla M. H., Ohyama T. (2014). Advances in Biology and Ecology of Nitrogen Fixation “Chapter 2: Nitrogen Fixing Cyanobacteria: Future Prospect”. Edition Takuji Ohyama.

Jahn W., Steinbeiss J., Zetsche K. (1984). Light intensity adaptation of phycobiliprotein content of the red alga *Porphyridium*. *Planta*, 161: 536-539.

Jaki B., Orjala J., Sticher O. (1999). A noval extracellular diterpenoid with antibacterial activity from the cyanobacterium *Nostoc commune*. *J. Nat. Prod.*, 62(3): 502-503.

Jeffrey S. W., Humphrey G. F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a , b , c 1 and c 2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen*, 167: 191-194.

Joffin J. N., Leyral G. (2001). Microbiologie technique : Dictionnaire des techniques. 3^{ème} Edition. Bordeaux: CRDP d'Aquitaine, 320.

Julies A., Christin M. (2002). Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects and safety. *Annual Review of Nutrition*, 22: 19-44.

Jungblut A. D., Neilan B. A. (2006). Molecular identification and evolution of the cyclic peptide hepatotoxins, microcystin and nodularin, synthetase genes in three orders of cyanobacteria. *Arch. Microbiol.*, 185(2): 107-114.

- Kähkönen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J., Rauha J. P., Pihlaja K., Kujala T. S., Heinonen M. (1999).** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 47(10): 3954-3962.
- Kasongo Kakupa D., Muenze P. K., Byl B., Wilmet M. D. (2016).** Etude de la prévalence des infections nosocomiales et des facteurs associés dans les deux hôpitaux universitaires de Lubumbashi, République Démocratique du Congo: cas des Cliniques Universitaires de Lubumbashi et l'Hôpital Janson Sendwe. *Pan African Medical Journal*, 24:275 doi:10.11604/pamj.2016.24.275.7626.
- Kato R., Nakadate T., Yamamoto S., Sugimura T. (1983).** Inhibition of 12 tetradecanoylphorbol 13-acetate-induced tumor promotion and ornithine decarboxylase activity by quercetin: possible involvement of lipoxygenase inhibition. *Carcinogenesis*, 4(10): 1301-1305.
- Kaushik P., Chauhan A. (2008).** In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of *Spirulina platensis*. *Indian J. Microbiol.*, 48:348-352.
- Kerbrat A. S. (2010).** Rôle des cyanobactéries dans le développement des zones ciguatérigènes en lien avec les impacts anthropiques, pour une meilleure gestion du risque ciguatérique. Thèse de doctorat de l'Université de Pierre et Marie Curie. Paris, 340.
- Kiet P. Q., Durand-Chastel H. (2006).** *Spirulina* rich in AIDS-Antiviral Sulfolipids. In Charpy *et al.* (ed.). *International Symposium on Cyanobacteria for Health, Science and Development*, 111-117.
- Kim J. D. (2006).** Screening of cyanobacteria (blue-green algae) from rice paddy soil for antifungal activity against plant pathogenic fungi. *Mycobiol.*, 34: 138-142.
- Klaas C. A., Wagner G., Laufer S., Sosa S., Loggia R. D., Bomme U., Pahl H. L., Merfort I. (2002).** Studies on the anti-inflammatory activity of phytopharmaceuticals prepared from Arnica flowers. *Planta Med.*, 68(5): 385-391.
- Komarek J., Anagnostidis K. (1986).** Modern approach to the classification system of cyanophytes; 2- *Chroococcales*. *Algological Studies*, 43: 157-226.
- Komarek J., Anagnostidis K. (1989).** Modern approach to the classification system of cyanophytes. 4-*Nostocales*. *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, 82(3):247-345.
- Komarek J., Anagnostidis K. (1998).** Cyanoprokaryota. 1. Teil *Chroococcales*. In: Süßwasserflora von Mitteleuropa. 19/1, Mollenhauer, D., Fisher, Stuttgart-Jena, 548.
- Komarek J., Anagnostidis K. (2005).** Cyanoprokaryota. 2. Teil *Oscillatoriales*. In: Süßwasserflora von Mitteleuropa. 19/2, Mollenhauer, D., Stuttgart-Jena, 759.

- Kourta D. (2013).** Infections nosocomiales en Algérie : 18% des hospitalisés sont contaminés. *El Watan*. 05/05/13. Disponible sur : <http://iflisen2008.over-blog.com/article-infections-nosocomiales-en-algerie-117620809.html>
- Kreitlow S., Mundt S., Lindequist U. (1999).** Cyanobacteria, a potential source of new biologically active substances. *Elsevier*, 70: 61-63.
- Kumar M., Tripathi M. K., Srivastava A., Gour J. K., Singh R. K., Tilak R., Asthana R. K. (2013).** Cyanobacteria, *Lyngbya aestuarii* and *Aphanothece bullosa* as antifungal and antileishmanial drug resources. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(6): 458-463.
- Kuresh A., Youdim A., Jeremy P. E., Spencer., Hangen S., Rice-Evans C. (2002).** Dietary flavonoids as potential neuroprotectants. *Biological Chemistry*, 383: 503-519.
- Lacap D. C., Smith G. J. D., Warren-Rhodes K., Pointing S. B. (2005).** Community structure of free-floating filamentous cyanobacterial mats from the Wonder Lake geothermal springs in the Philippines. *Can. J. Microbiol.*, 51: 583-589.
- Lang N. J., Whitton B. A. (1973).** Arrangement and structure of thylakoids. In: *The biology of blue-green algae* (N. G. Carr, B. A. Whitton, eds.). Berkeley-Los Angeles: University of California, 66-79.
- Leclerc H., Gaillard J. L., Simonet M. (1995).** *Microbiologie générale*. Doin éditeurs, Paris, 376-379.
- Lee S. J., Jang M. H., Kim H. S., Yoon B. D., Oh H. M. (2000).** Variation of microcystin content of *Microcystis aeruginosa* relative to medium N: P ration and growth stage. *J. Appl. Microbiol.*, 89(2): 323-329.
- Lee S. C., Hua C. C., Yu T. J., Shieh W. B., See L. C. (2005).** Risk factors of mortality for nosocomial pneumonia: importance of initial anti-microbial therapy. *Int. J. Clin. Pract.*, 59(1): 39-45.
- Leif C., Larson E. (2005).** Bounty from deep: an investigation of the antimicrobial propriétés of two species from phylum porifera: A thesis submitted in partial fulfilment of the Honours thesis, University of Winning.
- Leitão M., Couté A. (2005).** *Guide pratique des Cyanobactéries planctoniques du Grand Ouest de la France*. Agence de l'eau Seine-Normandie, 64.
- Li R., Carmichael W. W., Brittain S., Eaglesham G. K., Shaw G. R., Liu Y., Watanabe M. M. (2001).** First report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin from *Raphidiopsis curvata* (Cyanobacteria). *J. Phycol.*, 37:1121-1126.

- Liberton M., Berg R. H., Heuser J., Roth R., Pakrasi H. B. (2006).** Ultrastructure of the membrane systems in the unicellular cyanobacterium *Synechocystis sp.* Strain PCC 6803. *Protoplasma*, 227(2-4): 129-138.
- Loya S., Reshef V., Mizrachi E., Silberstein C., Rachamim Y., Carmeli S., Hizi A. (1998).** The inhibition of the reverse transcriptase of HIV-1 by the natural sulfoglycolipids from cyanobacteria: contribution of different moieties to their high potency. *J. Nat. Prod.*, 61: 891-895.
- Maalem H. (2016).** Le non-respect de l'hygiène des mains préoccupe les autorités sanitaires: Les infections nosocomiales, un problème de santé publique. *Ouest Tribune*. 04/05/2016. Disponible sur : <http://www.ouestribune-dz.com/fr/les-infections-nosocomiales-un-probleme-de-sante-publique-2/>
- Maccrain M., Heimsheidt T. (2000).** Isolation of an antibiotique found in the marine bacterium *Alteromonas rubra*. Berkeley, 1-14.
- Madigan M. T., Martinko J. M. (2007).** Brock, Biologie des microorganismes. 11^{ème} Ed. Pearson, France, 400-405.
- 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 & Technologie, B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, (9) : 35-40.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5): 727-747.
- Manivannan K., Anantharaman P., Balasubramanian T. (2012).** Evaluation of antioxidant properties of marine microalga *Chlorella marina* (Butcher, 1952). *Asian Pacific J. Trop. Biomed.*, S342-S346.
- Martin D. W., Schurr M. J., Mudd M. H., Govan J. R., Holloway B. W., Deretic V. (1993).** Mechanism of conversion to mucoidy in *Pseudomonas aeruginosa* infecting cystic fibrosis patients. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 90(18): 8377-8381.
- Martins R. F., Ramos M. F., Herfindal L., Sousa J. A., Skarven K., Vasconcelos V. M. (2008).** Antimicrobial and cytotoxic Assessment of Marine cyanobacteria- *Synechocystis* and *Synechococcus*. *Mar. Drugs.*, 6(1): 1-11.
- Matmed A. (2000).** Les cyanoprocaryotes dans le Tonga : Identification générique et étude de leur distribution. Diplôme d'ingénieur d'état en Sciences de la Mer. Option en aquaculture. Université d'Annaba, Algérie.

- Menail H. (2000).** Micro-algues toxiques dans le lac Oubeira. Approche taxonomique et suivi de la population micro-algale. Mémoire d'ingénieur d'état en Sciences de la Mer. Option en aquaculture. Université d'Annaba, Algérie.
- Mezouari S., Tifrit K., Chama Z., Benali M., Abbouni B. (2016).** Antagonistic Activity of the isolated Cyanobacteria from Lake of Sidi Mohamed Benali against some nosocomial pathogens bacteria. *Der Pharmacia Lettre*, 8(8):173-179.
- Michel T., Destandau E., Le Floch G., Lucchesi M. E., Elfakir C. (2012).** Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. *Food Chemistry*, 131(3): 754-760.
- Middleton E. J. (1996).** Biological properties of plant flavonoids: an overview. *International Journal of Pharmacology*, 34(5): 344-348.
- Miyochi I., Sasner J., Haney F. (1994).** Lipids of cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* and inhibition of *Chlorella* growth. *J. Chemical Ecology*, 20(9): 2429-2436.
- Modak B. (2001).** Actividad antibacteriana de flavonoïdes aislados des exudado resinosa de *Heliotropium sinnuatum*. Efecto del tipo de estructura. *Bol. Soc. Quim.*, 47(1): 366-421.
- Mollers K. B., Cannella D., Jorgensen H., Frigaard N. U. (2014).** Cyanobacterial biomass as carbohydrate and nutrient feedstock for bioethanol production by yeast fermentation. *Biotechnol. Biofuels.*, 7-64.
- Monnet T. (2011).** Les infections nosocomiales : L'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en causes. Thèse pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie (diplôme d'état). Faculté de pharmacie de Grenoble. Université Joseph Fourier, Grenoble, 93.
- Mulkidjanian A. Y., Koonin E. V., Makarova K. S., Mekhedov S. L., Sorokin A., Wolf Y. I., Dufresne A., Partensky F., Burd H., Kaznadzey D., Haselkorn R., Galperin Y. (2006).** The cyanobacterial genome core and the origin of photosynthesis. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 103:13126-13131.
- Muller-Feuga A. (1997).** Microalgues marines, les enjeux de la recherche, collection Bilans et prospectives, IFREMER.
- Mundt S., Kreitlow A., Nowotny A., Effmert U. (2001).** Biochemical and pharmacological investigations of selected cyanobacteria. *Int. J. Hyg. Env. Health*, 203: 327-334.
- Mur L. R., Skumberg O. M., Utkilen H. (1999).** Cyanobacteria in the Environment. In: Chorus, I. et Bartram, J. 1999. (Eds.). *Toxic Cyanobacteria in water. A guide to their public Health consequences, monitoring and management*. WHO Ed. E & FN SPON. 41-111.

- Nasri H., Bouaïcha N., Harche M. K. (2007).** A new morphospecies of *Microcystis* sp. forming bloom in the Cheffia dam (Algeria): seasonal variation of microcystin concentrations in raw water and their removal in a full-scale treatment plant. *Environ. Toxicol.*, 22(4): 347-356.
- Necib A., Rezig H., Boughediri L. (2014).** Estimation biologique de la pollution organique par les micro-algues de deux sites aquatiques, Cas de L'Oued "Seybouse " et le lac "El-Mellah".
- Neuveux J. (1974).** Recherche sur la chlorophylle *a* et la phéophytine *a* en milieu oligotrophe et en milieu eutrophe (Méditerranée). Thèse de 3^{ème} cycle. Univ. Paris VI, 116.
- Okigbo R. N., Mbajinka C. S., Njoku C. O. (2005).** Antimicrobial potentials of (UDA) *Xylopi aethiopica* and *Occinum gratissimum* L. some pathogenous of man. *Int. J. Mol. Med. Adv. Sci.*, 1(4): 392-397.
- OMS [Organisation Mondiale de la Santé]. (2002).** Prévention des infections nosocomiales, Guide pratique 2^{ème} édition Sous la direction de DUCCEL Georges-Pierre. Fondation Hygie, Genève, Suisse WHO/CDS/CSR/EPH/2002, 80.
- OMS [Organisation Mondiale de la Santé]. (2009).** WHO guidelines on hand hygiene in health care: a Summary. Genève, Suisse, 64.
- OMS [Organisation Mondiale de la Santé]. (2011).** Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide: a systematic review of the literature. Genève, Suisse, 40.
- OMS [Organisation Mondiale de la Santé]. (2017).** Pourquoi un Défi mondial sur les infections nosocomiales.
- Østensvik Ø., Skulberg O. M., Underdal B., Hormazabal V. (1998).** Antibacterial properties of extracts from selected planktonic freshwater cyanobacteria-a comparative study of bacterial bioassays. *J. Appl. Microbiol.*, 84: 1117-1124.
- Oté J., Garcia-Estebanez C., Miguelanez S., Campos J., Marti S., Vila J., Dominguez M. A., Docobo F., Larrosa N., Pascual A., Pintado V., Coll P. (2007).** Genotypic diversity of imipenem resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* in Spain. *The Journal of Infection*, 55(3): 260-266.
- Ouartsi A., Saoudi A., Chekireb D. (2011).** Etude des efflorescences toxiques a cyanobactéries dans le barrage Mexa, Algerie. *Rev. Microbiol. Ind. San. et Environn.*, 5(1): 81-100.
- Oufdou K., Mezrioui N., Oudra B., Barakate M., Loudiki M. (1998).** Effect of extracellular and endocellular products from cyanobacterium, *Synechocystis* sp. on the growth of some sanitation system bacteria. *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, 90 : 139-148.

- Oufdou K., Oudra B. (2009).** Substances bioactives élaborées par des cyanobactéries isolées de certains écosystèmes aquatiques marocains. *Afrique Science*, 05(2): 260-279.
- Pandey A., Pandey V. D. (2013).** Evaluation of filamentous cyanobacteria for phycobiliprotein content and composition. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 3(2): 222-227.
- Pang Q. S., Guo B. J., Ruan J. H. (1988).** Enhancement of endonuclease activity and repair DNA synthesis by polysaccharide of *Spirulina platensis*. *Yi Chuan Xue Bao*, 15(5): 374-381.
- Patterson G. M. L., Bolis C. M. (1997).** Fungal cell wall polysaccharides elicit an antifungal secondary metabolite (phytoalexin) in the cyanobacterium *Scytonema ocellatum*. *J. Phycol.*, 33: 54-60.
- Paul A., Rout J. (2017).** Biochemical evaluation of some cyanobacterial strains isolated from the lime sludge wastes of a Paper Mill in Southern Assam (India). *Phykos*, 47(1): 8-15.
- Pedersen M., Da Silva E. J. (1973).** Simple brominated phenols in the blue-green alga *Calothrix brevissima* West. *Planta*, 115: 83-96.
- Peleg A. Y., Seifert H., Paterson D. L. (2008).** *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.*, 21(3): 538-582.
- Pelmont J. (1995).** Bactérie et environnement. Vol 2. Office des Publication Universitaire, Grenoble, 460-518.
- Pharmacopée européenne. (2005).** 5^{ème} édition.
- Pittet D., Monod M., Suter P. M., Frenk E., Auckenthaler R. (1994).** *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann. Surg.*, 220 : 751-758.
- Popi. (2003).** Maladies infectieuses. Paris : CMIT, 185-224.
- Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A. (2003).** Microbiologie. De Boeck Université, 2^{ème} éd. Française, traduit de la 5^{ème} édition américaine (2002).
- Prescott L. M., Harley J. P., Klein D., Willey J. M., Sherwood L. M., Woolverton C. J. (2010).** Microbiologie. 3^{ème} éd., De Boeck, Paris, France, 520-530.
- Pruvost J., Cornet J. F., Le Borgne F., Jenck J. (2011).** Production industrielle de microalgues et cyanobactéries. *Techniques de l'Ingénieur, rubrique Innovations (in200)*, 1-17.
- Qishen P., Guo B. J., Kolman A. (1989).** Radioprotective effect of extract from *Spirulina platensis* in mouse bone marrow cells studied by using the micronucleus test. *Toxicology Letters*, 48: 165-169.
- Ramadan M. F., Asker M. M. S., Ibrahim Z. K. (2008).** Functional bioactive compounds and biological activities of *Spirulina platensis* lipids. *Czech J. Food Sci.*, 26: 211-222.

- Ramamurthy V. D. (1970).** Antibacterial activity of the marine blue-green alga *Trichodesmium erythraeum* in the gastro-intestinal contents of the sea gull *Larus brumicephalus*. Mar. Biol., 6:74-76.
- Rebaudet S., Kraemer P., Savini H., De Pina J. J., Rapp C., Demortiere F., Simon F. (2007).** Risk of nosocomial infection in intertropical Africa-part 3: health care workers. Med. Trop., 67(3) : 291-300.
- Rebiahi S. A. (2011).** Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibioresistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de Doctorat en biologie : Option microbiologie. Université de Tlemcen, Algérie, 158.
- Rebiere M. C., Castets A. M., Houmard J., Tandeau de Marsac N. (1986).** Plasmid distribution among unicellular and filamentous cyanobacteria: occurrence of large and megaplasmids. FEMS Microbiol. lett., 37: 269-275.
- Reis A., Mendes A., Lobo-Fernandes H., Empis J. A., Novais J. M. (1998).** Production, extraction and purification of phycobiliproteins from *Nostoc sp.* Bioresour. Technol., 66: 181-187.
- Rezanka T., Dembitsky V. M. (2006).** Metabolites produced by cyanobacteria belonging to several species of the family *Nostocaceae*. Folia Microbiol., 51(3): 159-182.
- Ribéreau G. P. (1982).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris, 254.
- Rippka R., Waterbury J. B., Cohen-Bazire G. (1974).** A cyanobacterium which lacks thylakoids. Arch. Microbiol., 100: 419-436.
- Rippka R., Deruelles J., Waterbury J. B., Herdman M., Stanier R. Y. (1979).** Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. J. Gen. Microb., 111: 1-61.
- Rippka R. (1988).** Recognition and identification of cyanobacteria. In: Methods in Enzymology, 167: 28-67.
- Robarts R. D., Zohary T. (1987).** Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. New Zeal. J. Mar. Fresh. Res., 21: 391-399.
- Roger P. (2006).** Disponible sur : <http://pagespersoorange.fr/cyanobacteries/pages/credits.htm>
- Roger P. A., Reynaud P. A. (1977).** Les méthodes d'isolement et de purification des cyanophycées. Cah. ORSTOM, Ser. Biol., 12(2): 121-128.
- Rongead, Gneclie M. A. (2011).** Utilisation des normes qualités comme outils de pérennisation des fermes de spiruline dans les pays en voie de développement. 172.

- Rowland H. D. (2003).** The Microbial Models of Molecular Biology: From Genes to Genomes. Oxford: Oxford University Press, 337.
- Saisivam S., Bhikshapathi D. V., Krishnaveni J., Kishan V. (2008).** Isolation of borrelidin from *Streptomyces californicus*-An Indian soil isolate. Indian J. Biotechnol., 7: 349-355.
- Salle M., Dankoko B., Badiane M., Ehua E., Kuakuwi N. (1999).** La spiruline: une source d'alimentation à promouvoir. Médecine d'Afrique Noire, 46: 87-92.
- Samou Fotso S. (2005).** Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie « B » de l'hôpital du Point G. Thèse de Docteur en Médecine. Université du Mali, 106.
- Sanger F., Nicklen S., Coulson A. R. (1977).** DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 74(12): 5463-5467.
- Sanjeet K., Kabi M., Kumari M. (2010).** Study on phytochemicals analysis from leaves of *Bixa orellana*. Emerging Science, 2:5.
- Saoudi A. (2008).** Isolement, culture et évaluation de la toxicité des efflorescences à *Microcystis* sp., du barrage Mexa (El Taref). Mémoire de magister. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 148.
- Scavizzi M., Labia R., Petitjean O., Elbhar A. (2000).** L'antibiogramme de l'analyse des populations bactériennes à la thérapeutique. J. Antibiotiques, 2 : 122-134.
- Schaffner W. (1997).** Les infections nosocomiales. CECIL Traité de médecine interne. 1ère édition française. 267 : 1548-1555.
- Schembri M. A., Neilan B. A., Saint C. P. (2001).** Identification of genes implicated in toxin production in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. Environ. Toxicol., 16: 413-421.
- Schijlen L. V., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. R. (2004).** Analysis of total phenol and other oxidation substances and antioxidants by mean of Folin-Ciocalteu Reagent. Method in enzymology, 299: 152-178.
- Schirrmeister B. E., Anisimova M., Antonelli A., Bagheri H. C. (2011).** Evolution of cyanobacterial morphotypes: Taxa required for improved phylogenomic approaches. Communicative & Integrative Biology, 4(4):424-427.
- Schmitz T. (2014).** Les incroyables propriétés de la phycocyanine (Principes de Santé).
- Scholz B., Liebezeit G. (2006).** Chemical screening for bioactive substances in culture media of microalgae and cyanobacteria from marine and brackish water habitats: first results. Pharm. Biol., 44(7) : 544-549.

- Sekhri-Arafa N. (2011).** Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine, Algérie, 186.
- Sevrin-Reyssac J., La Noüe J., Proulx D. (1995).** Le recyclage du lisier de porc par lagunage. Lavoisier, Paris, 17.
- Sguera S. (2008).** *Spirulina platensis* et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. Faculté de Pharmacie. Université Henri Poincaré-Nancy, 175.
- Shalaby E. A., Shanab S. M. M. (2013).** Antiradical and Antioxidant Activities of Different *Spirulina platensis* Extracts against DPPH and ABTS Radical Assays. J. Mar. Biol. Oceanogr., 2(1): 1-8.
- Sharathchandra K., Rajashekhar M. (2012).** Antioxidant activity in the four species of cyanobacteria isolated from a sulfur spring in the Western Ghats forests of Karnataka. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 4(1): (B) 275-285.
- Sialve B., Steyer J. P. (2013).** Les microalgues, promesses et défis. Innovations agronomiques, Paris, 26 : 25-39.
- Sidler W. A. (1994).** Phycobilisome and phycobiliprotein structures. In: Bryant DA (ed). The molecular biology of cyanobacteria. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 139-216.
- Silvano J. (2005).** Toxicité des cyanobactéries d'eau douce vis-à-vis des animaux domestiques et sauvages. Thèse de doctorat. Ecole nationale vétérinaire de Lyon, Lyon, France, 116.
- Singh R. K., Tiwari S. P., Rai A. K., Mohapatra T. M. (2011).** Cyanobacteria: an emerging source for drug discovery. The Journal of Antibiotics, 64: 401-412.
- Singh O. K., Oinam G., Tiwari O. N. (2012).** New Record of Potential Cyanobacteria from Indian Region Falling Indo-Burma Biodiversity Hotspots (North-East Region of India) and Partial Characterization for Value Additions. Philipp. J. Sci., 141(1): 57-66.
- Sivonen K., Jones G. J. (1999).** Cyanobacterial toxins. In: Chorus I., Bartram J. (eds) Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management. WHO. E & FN Spon. London, 41-111.
- Skulberg O. M., Codd G. A., Carmichael W. W. (1984).** Toxic blue-green algal blooms in Europe: a growing problem. Ambio., 13: 244-247.
- Soltani N., Khavari-Nejad R. A., Yazdi M. T., Shokravi S., Fernández-Valiente E. (2005).** Screening of soil cyanobacteria for antifungal and antibacterial activity. Pharm. Biol., 43: 455-459.

- Spedding G., Ratty A., Middleton E. J. (1989).** Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids. *Antiviral Research*, 12(2): 99-110.
- Stanier R. Y., Kunisawa R., Mandel M., Cohen-Bazire G. (1971).** Purification and properties of unicellular blue-green algae (order *Chroococcales*). *Bacteriol. Rev.*, 35: 171-205.
- Stanier R. Y., Sistrom W. R., Hansen T. A., Whitton B. A., Castenholz R. W., Pfennig N., Gorlenko V. N., Kondretieva E. N., Eimhjellen K. E., Whittenburg R., Gherna R. L., Trüper H. G. (1978).** Proposal to place the nomenclature of the cyanobacteria (blue - green algae) under the rules of the International Code of Nomenclature of Bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 28: 335-336.
- Stover C. K., Pham X. Q., Erwin A. L., Mizoguchi S. D., Warrenner P., Hickey M. J., Brinkman F. S., Hufnagle W. O., Kowalik D. J., Lagrou M., Garber R. L., Goltry L., Tolentino E., Westbrook-Wadman S., Yuan Y., Brody L. L., Coulter S. N., Folger K. R., Kas A., Larbig K., Lim R., Smith K., Spencer D., Wong G. K., Wu Z., Paulsen I. T., Reizer J., Saier M. H., Hancock R. E., Lory S., Olson M. V. (2000).** Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. *Nature*, 406(6799): 959-964.
- Su C. M., Hsueh H. T., Li T. Y., Huang L. C., Chu Y. L., Tseng C. M., Chu H. (2013).** Effects of light availability on the biomass production, CO₂ fixation, and bioethanol production potential of *Thermosynechococcus* CL-1. *Bioresour. Technol.*, 145:162-165.
- Swain S. S., Padhy R. N., Singh P. K. (2015).** Anticancer compounds from cyanobacterium *Lyngbya* species: a review. *Antonie van Leeuwenhoek*, 08(2): 223-265.
- Tan L. T. (2007).** Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery. *Phytochem.*, 68(7): 954-979.
- Tandeau de Marsac N., Houmard J. (1987).** Advances in cyanobacterial molecular genetics. In P. Fay and C. van Baalen (eds.) "The Cyanobacteria", Elsevier Science Publishers, 251-302.
- Taton A., Grubisic S., Brambilla E., De Wit R., Wilmotte A. (2003).** Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): A morphological and molecular approach. *App. Environ. Microb.*, 69(9): 5157-5169.
- Taton A., Grubisic S., Ertz D., Hodgson D.A., Piccardi R., Biondi N., Tredici M. R., Mainini M., Losi D., Marinelli F., Wilmotte A. (2006).** Polyphasic study of Antarctic cyanobacterial strains. *J. Phycol.*, 42(6): 1257-1270.

- Terao K., Ohmori S., Igarashi K., Ohtani I., Watanabe M. F., Harada K. I., Ito E., Watanabe M. (1994).** Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green alga *Umezakia natans*. *Toxicon*, 32: 833-843.
- Thiolet J. M., Lacavé L., Jarno P., Metzger M. H., Tronel H., Gautier C., L'Hériveau F., Coignard B. (2006).** Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, France, 2006 (groupe de travail Raisin ENP 2006).
- Tiwari A., Shivani. (2012).** Antioxidative Potential of Catalase in Bloom Forming Cyanobacteria- *Anabaena variabilis* and *Synechococcus elongates*. *International Journal of Pharma and Biosciences*, 3(3): 956-966.
- Toudeft et al. (2003).** Enquête de prévalence des infections nosocomiales. Service d'Epidémiologie et Médecine Préventive. Centre Hospitalo-universitaire de Tizi-Ouzou.
- Trabelsi L., Ben Ouada H., Bassa H. (2010).** Activités biologiques des métabolites excrétés par la cyanobactérie filamenteuse *Arthrospira platensis*. *Phytothérapie*, 8: 282-289.
- Tuyet L. T. A. (2010).** Chemical and Biological Investigations of Vietnamese Cyanobacteria. Ernst Moritz Arndt-Universität Greifswald, Vietnam, 212.
- Ulanowska K. (2006).** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbial.*, 184(5): 271-278.
- Uma R., Sivasubramanian V., Devaraj S. N. (2011).** Evaluation of *in vitro* antioxidant activities and antiproliferative activity of green microalgae, *Desmococcus olivaceous* and *Chlorococcum humicola*. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 2(3): 82-93.
- Van Acker S. A., Tromp M. N., Haenen G. R., Van Der Vijgh W. J., Bast A. (1995).** Flavonoids as scavengers of nitric oxide Radical. *Biochemical and Biophysical Research*, 214(3): 755-759.
- Van Den Hoek C., Mann D. G., Jahns H. M. (1995).** *Algae: An introduction to phycology*. Cambridge University Press, 623.
- Vishwanath S. R., Rajashekhar M. (2015).** Phytochemical screening of twelve species of phytoplankton isolated from Arabian Sea coast. *Journal of Coastal Life Medicine*, 3(11): 857-863.
- Volk R. B. (2005).** Screening of microalgal culture media for the presence of algicidal compounds and isolation and identification of two bioactive metabolites, excreted by the cyanobacteria *Nostoc insulare* and *Nodularia harveyana*. *J. Appl. Phycol.*, 17: 339-347.

- Volk R. B. (2008).** Screening of microalgae for species excreting norharmane, a manifold biologically active indole alkaloid. *Microbiol. Res.*, 167: 307-317.
- Vrijens F., Gordts B., De Laet C., Devriese S., Van De Sande S., Huybrechts M., Peeters G., Hulstaert F. (2008).** Les infections nosocomiales en Belgique, volet 1: étude nationale de prévalence. 120.
- Wagenlehner F. M., Cek M., Naber K. G., Kiyota H., Bjerklund-Johansen T. E. (2011).** Epidemiology, treatment and prevention of healthcare-associated urinary tract infections. *World J. Urol.*, 30(1):59-67.
- Whitton B. A., Sinclair C. (1975).** Ecology of blue-green algae. *Sci. Prog. Oxford.*, 62: 429-446.
- Xue C. H., Hu Y. Q., Saito H., Zhang Z. H., Li Z. J., Cai Y. P., Ou C. R., Lin H., Imbs A. B. (2002).** Molecular species composition of glycolipids from *Spirulina platensis*. *Food Chemistry*, 77: 9-13.
- Yahiaoui A. (2012).** Inondations torrentielles-Cartographie des zones vulnérables en Algérie du nord (cas de l'oued Mekerra, Wilaya de Sidi Bel-Abbes). Thèse de doctorat en hydraulique. Ecole Nationale Polytechnique-Laboratoire de mobilisation et valorisation des ressources en eau, Alger, 210.
- Yahiaoui K., Arab k., Bouchenak O. (2015).** *Spirulina*: Biochemical characterization and antimicrobial activity. *J. Biotechnol. Biomater.*, 5:2.
- Yan X., Chuda Y., Suzuki M., Nagata T. (1999).** Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, common edible seaweed. *Biosci. Biolechnol. Biochem.*, 63(3): 605-607.
- Yeager C. M., Kornosky J. L., Morgan R. E., Cain E. C., Garcia-Pichel F., Housman D. C., Belnap J., Kuske C. R. (2007).** Three distinct clades of cultured heterocystous cyanobacteria constitute the dominant N₂-fixing members of biological soil crusts of the Colorado Plateau, USA. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 60(1): 85-97.
- Zeeshan M., Suhail S., Biswas D., Farooqui A., Arif J. M. (2010).** Screening of selected cyanobacterial strains for phycochemical compounds and biological activities *in vitro*. *Biochem. Cell. Arch.*, 10:163-168.
- Zehnder A., Hughes E. O. (1958).** The antialgal activity of actidione. *Can. J. Microbiol.*, 4(4): 399-408.
- Zehr J. P., Bench S. R., Carter B. J., Hewson I., Niazi F., Shi T., Tripp H. J., Affourtit J. P. (2008).** Globally Distributed Uncultivated Oceanic N₂-Fixing Cyanobacteria Lack Oxygenic Photosystem II. 322: 1110-1112.

Zenk M. H., Juenger M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68: 2757-2772.

Zhou L., Yu H., Chen K. (2002). Relationship between microcystin in drinking water and colorectal cancer. *Biomed. Environ. Sci.*, 15(2): 166-171.

ANNEXES

Annexe 1

➤ Composition du milieu de culture BG11 (Stanier *et al.*, 1971)

Milieu à préparer (pour 1L d'eau distillée)

NaNO ₃	1,5 g
K ₂ HPO ₄	0,04 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0,075 g
CaCl ₂ . 2H ₂ O.....	0,036 g
Acide citrique.....	0,006 g
EDTA disodique.....	0,001 g
Na ₂ CO ₃	0,02 g
Citrate de fer ammoniacal.....	0,06 g
Solution de sels métalliques*.....	1 mL

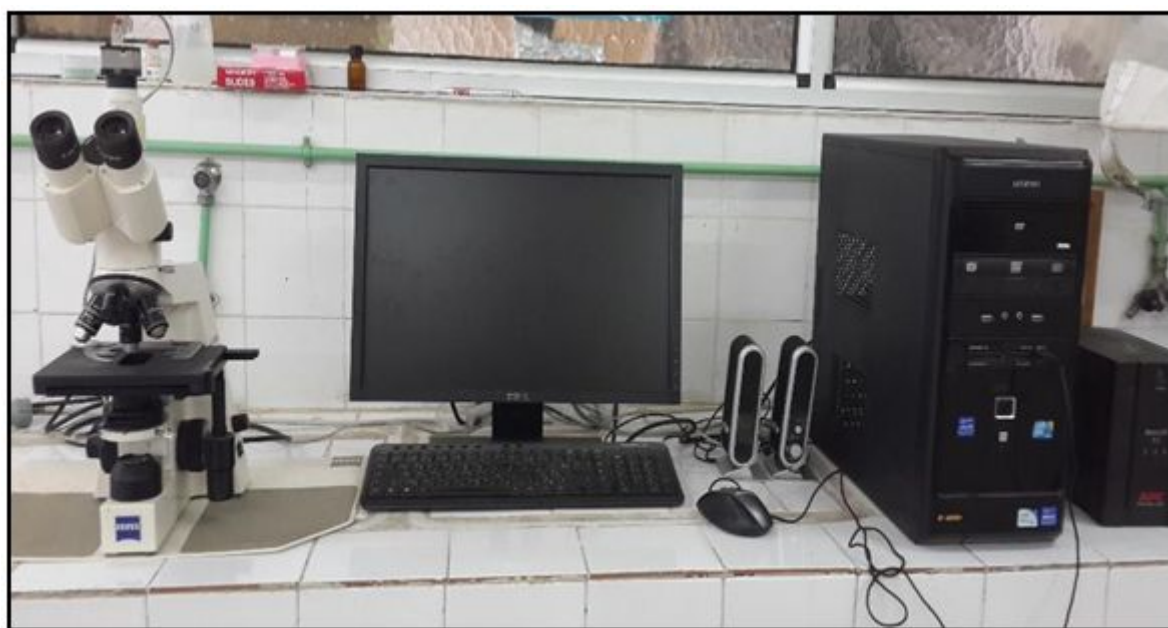
***Solution de sels métalliques** (pour 1L d'eau distillée)

H ₃ BO ₃	2,86 g
MnCl ₂ .4H ₂ O.....	1,81 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O.....	0,222 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O.....	0,39 g
CuSO ₄ .5H ₂ O.....	0,079 g
Co (NO ₃) ₂ .6H ₂ O.....	0,0494 g

Le pH est ajusté à 7,1 et le milieu est stérilisé à 120°C pendant 20 min.

Annexe 2

Dispositif pour l'identification des cyanobactéries : microscope Carl Zeiss model (Axiostar plus) doté d'une caméra uEye32 numérique



Annexe 3

➤ **Préparation de la solution tampon phosphate 0,05M (pH=6,8)**

Solution A :

Dissoudre 1,816 g de KH_2PO_4 dans 200 mL de l'eau distillée.

Solution B :

Dissoudre 2,322 g de K_2HPO_4 dans 200 mL de l'eau distillée.

Préparation:

Mélanger 188,8 mL de solution A avec 11,2 mL de solution B, pour 200 mL de solution de tampon.

➤ **Composition du réactif de Wagner**

Iodure de potassium (KI).....	2 g
Iode (I_2).....	1,27 g
Eau distillée.....	100 mL

Annexe 4

Description morphologique des espèces de cyanobactéries isolées à partir de deux écosystèmes aquatiques algériens « l'oued Mekerra et cascades d'El Ourit »

Isolats de cyanobactéries	Organisat. /Forme	Organite	Dimensions des cellules (µm)		Cellule différenciée	Gaine	Ramificat.
			Larg.	Long.			
Les <i>Oscillatoriales</i>							
<i>Leptolyngbya sp.</i>	Filamenteux droit / Solitaire	/	1,73	1,26	Non	Epaisse/ Incolore	Non
<i>Leptolyngbya sp1</i>	Filamenteux droit / Solitaire, en masse	/	1,99	2,30	Non	Fine/ Incolore	Non
<i>Leptolyngbya sp2</i>	Filamenteux droit / Solitaire	/	1,60	1,34	Non	Epaisse/ Incolore	Non
<i>Leptolyngbya foveolarum</i>	Filamenteux droit / Solitaire, en masse	/	1,57	2,01	Non	Fine/ Incolore	Non
<i>Leptolyngbya boryana</i>	Filamenteux droit / Solitaire, en masse	/	1,49	1,45	Non	Fine/ Incolore	Non
<i>Pseudanabaena sp.</i>	Filamenteux/ Solitaire	Aérotopes intercellula ires	1,37	1,45	Non	Absente	Non
<i>Limnothrix sp.</i>	Filamenteux droit / Solitaire	Aérotopes polaires	1,83	4,10	Non	Absente	Non
<i>Geitlerinema sp.</i>	Filamenteux droit / Solitaire, en masse	Filaments mobiles	0,82	/	Non	Absente	Non
Les <i>Nostocales</i>							
<i>Anabaena sp.</i>	Filamenteux droit / Solitaire	/	1,48	1,62	Formation d’akinètes et d’ hétérocystes intercalaires/ Cellules terminales coniques	Absente	Non

Annexe 5

Confirmation des résultats de l'identification et de l'antibiogramme des souches bactériennes d'infections nosocomiales par l'automate WalkAway de Siemens

Rapport de Microbiologie																																																																																																																																																																																																									
NOM	souches	Echantillon	500706	Statut	Terminé																																																																																																																																																																																																				
ID patient	BOUMERDES	Prélév.		Date de sta...	20/04/2016																																																																																																																																																																																																				
Date de naiss...		Service Iso		Recueilli																																																																																																																																																																																																					
Ad traitant				Méd. presc																																																																																																																																																																																																					
105	Staphylococcus aureus			Statut:	Terminé	19/04/2016																																																																																																																																																																																																			
10	Staphylococcus aureus			Statut:	Terminé	19/04/2016																																																																																																																																																																																																			
10	Escherichia coli			Statut:	Terminé	19/04/2016																																																																																																																																																																																																			
219	Escherichia coli			Statut:	Terminé	19/04/2016																																																																																																																																																																																																			
28	Klebsiella pneumoniae			Statut:	Terminé	20/04/2016																																																																																																																																																																																																			
77	Klebsiella pneumoniae			Statut:	Terminé	19/04/2016																																																																																																																																																																																																			
385	Acinetobacter baumannii/haemolyticus			Statut:	Terminé	19/04/2016																																																																																																																																																																																																			
412	Acinetobacter baumannii/haemolyticus			Statut:	Terminé	20/04/2016																																																																																																																																																																																																			
20	Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus			Statut:	Terminé	20/04/2016																																																																																																																																																																																																			
55	Escherichia coli			Statut:	Terminé	19/04/2016																																																																																																																																																																																																			
537	Pseudomonas aeruginosa			Statut:	Terminé	19/04/2016																																																																																																																																																																																																			
<table border="0"> <tr> <td>05 S. aureus</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>190 S. aureus</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Antibiotique</td> <td>CMI</td> <td>Expert</td> <td>Interp</td> <td>Origine</td> <td>Antibiotique</td> <td>CMI</td> <td>Expert</td> </tr> <tr> <td>Acide fusidique</td> <td><=2</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Acide fusidique</td> <td><=2</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Amikacine</td> <td><=8</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Amikacine</td> <td>16</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Amox/Ac.Clav</td> <td><=4/2</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Amox/Ac.Clav</td> <td><=4/2</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Ciprofloxacine</td> <td><=1</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Ciprofloxacine</td> <td><=1</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Clindamycine</td> <td><=0,25</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Clindamycine</td> <td>0,5</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Daptomycine</td> <td><=1</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Daptomycine</td> <td><=1</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Dépi-stage Céfoxitine</td> <td><=4</td> <td>NEG</td> <td></td> <td></td> <td>Dépi-stage Céfoxitine</td> <td><=4</td> <td>NEG</td> </tr> <tr> <td>Erythromycine</td> <td><=0,5</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Erythromycine</td> <td><=0,5</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Fosfomycine</td> <td><=32</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Fosfomycine</td> <td><=32</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Gentamicine</td> <td><=1</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Gentamicine</td> <td>4</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Lévofloxacine</td> <td><=1</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Lévofloxacine</td> <td><=1</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Linézolide</td> <td><=2</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Linézolide</td> <td>4</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Mupirocine</td> <td><=4</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Mupirocine</td> <td><=4</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Nitrofurantoïne</td> <td><=32</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Nitrofurantoïne</td> <td><=32</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Oxacilline</td> <td>1</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Oxacilline</td> <td>0,5</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Pénicilline</td> <td>>0,25</td> <td>BLAC</td> <td></td> <td></td> <td>Pénicilline</td> <td>>0,25</td> <td>BLAC</td> </tr> <tr> <td>Rifampicine</td> <td><=0,5</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Rifampicine</td> <td><=0,5</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Teicoplanine</td> <td><=1</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Teicoplanine</td> <td><=1</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Tétracycline</td> <td><=1</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Tétracycline</td> <td><=1</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Tobramycine</td> <td><=1</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Tobramycine</td> <td>4</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Triméth/Sulfa</td> <td><=1/19</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Triméth/Sulfa</td> <td><=1/19</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Vancomycine</td> <td><=0,5</td> <td>S</td> <td></td> <td></td> <td>Vancomycine</td> <td>2</td> <td>S</td> </tr> </table>										05 S. aureus				190 S. aureus				Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine	Antibiotique	CMI	Expert	Acide fusidique	<=2	S			Acide fusidique	<=2	S	Amikacine	<=8	S			Amikacine	16	S	Amox/Ac.Clav	<=4/2	S			Amox/Ac.Clav	<=4/2	S	Ciprofloxacine	<=1	S			Ciprofloxacine	<=1	S	Clindamycine	<=0,25	S			Clindamycine	0,5	S	Daptomycine	<=1	S			Daptomycine	<=1	S	Dépi-stage Céfoxitine	<=4	NEG			Dépi-stage Céfoxitine	<=4	NEG	Erythromycine	<=0,5	S			Erythromycine	<=0,5	S	Fosfomycine	<=32	S			Fosfomycine	<=32	S	Gentamicine	<=1	S			Gentamicine	4	S	Lévofloxacine	<=1	S			Lévofloxacine	<=1	S	Linézolide	<=2	S			Linézolide	4	S	Mupirocine	<=4	S			Mupirocine	<=4	S	Nitrofurantoïne	<=32	S			Nitrofurantoïne	<=32	S	Oxacilline	1	S			Oxacilline	0,5	S	Pénicilline	>0,25	BLAC			Pénicilline	>0,25	BLAC	Rifampicine	<=0,5	S			Rifampicine	<=0,5	S	Teicoplanine	<=1	S			Teicoplanine	<=1	S	Tétracycline	<=1	S			Tétracycline	<=1	S	Tobramycine	<=1	S			Tobramycine	4	S	Triméth/Sulfa	<=1/19	S			Triméth/Sulfa	<=1/19	S	Vancomycine	<=0,5	S			Vancomycine	2	S
05 S. aureus				190 S. aureus																																																																																																																																																																																																					
Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine	Antibiotique	CMI	Expert																																																																																																																																																																																																		
Acide fusidique	<=2	S			Acide fusidique	<=2	S																																																																																																																																																																																																		
Amikacine	<=8	S			Amikacine	16	S																																																																																																																																																																																																		
Amox/Ac.Clav	<=4/2	S			Amox/Ac.Clav	<=4/2	S																																																																																																																																																																																																		
Ciprofloxacine	<=1	S			Ciprofloxacine	<=1	S																																																																																																																																																																																																		
Clindamycine	<=0,25	S			Clindamycine	0,5	S																																																																																																																																																																																																		
Daptomycine	<=1	S			Daptomycine	<=1	S																																																																																																																																																																																																		
Dépi-stage Céfoxitine	<=4	NEG			Dépi-stage Céfoxitine	<=4	NEG																																																																																																																																																																																																		
Erythromycine	<=0,5	S			Erythromycine	<=0,5	S																																																																																																																																																																																																		
Fosfomycine	<=32	S			Fosfomycine	<=32	S																																																																																																																																																																																																		
Gentamicine	<=1	S			Gentamicine	4	S																																																																																																																																																																																																		
Lévofloxacine	<=1	S			Lévofloxacine	<=1	S																																																																																																																																																																																																		
Linézolide	<=2	S			Linézolide	4	S																																																																																																																																																																																																		
Mupirocine	<=4	S			Mupirocine	<=4	S																																																																																																																																																																																																		
Nitrofurantoïne	<=32	S			Nitrofurantoïne	<=32	S																																																																																																																																																																																																		
Oxacilline	1	S			Oxacilline	0,5	S																																																																																																																																																																																																		
Pénicilline	>0,25	BLAC			Pénicilline	>0,25	BLAC																																																																																																																																																																																																		
Rifampicine	<=0,5	S			Rifampicine	<=0,5	S																																																																																																																																																																																																		
Teicoplanine	<=1	S			Teicoplanine	<=1	S																																																																																																																																																																																																		
Tétracycline	<=1	S			Tétracycline	<=1	S																																																																																																																																																																																																		
Tobramycine	<=1	S			Tobramycine	4	S																																																																																																																																																																																																		
Triméth/Sulfa	<=1/19	S			Triméth/Sulfa	<=1/19	S																																																																																																																																																																																																		
Vancomycine	<=0,5	S			Vancomycine	2	S																																																																																																																																																																																																		
<table border="0"> <tr> <td>200 E. coli</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>210 E. coli</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Antibiotique</td> <td>CMI</td> <td>Expert</td> <td>Interp</td> <td>Origine</td> <td>Antibiotique</td> <td>CMI</td> <td>Expert</td> </tr> <tr> <td>Acide nalidixique</td> <td><=16</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>Acide nalidixique</td> <td>>16</td> <td></td> </tr> </table>										200 E. coli				210 E. coli				Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine	Antibiotique	CMI	Expert	Acide nalidixique	<=16				Acide nalidixique	>16																																																																																																																																																																									
200 E. coli				210 E. coli																																																																																																																																																																																																					
Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine	Antibiotique	CMI	Expert																																																																																																																																																																																																		
Acide nalidixique	<=16				Acide nalidixique	>16																																																																																																																																																																																																			
S = Sensible N/R = Pas reporté Blanc = Données non disponibles, ou médicament pas recommandé ou testé I = Intermédiaire --- = Pas testé BLSE = Bêta-lactamase à spectre étendu R = Résistant POS = Positif Btsc = Bêta-lactamase positif CMI = mg/ml (mg/l) NEG = Négatif TFG = Souche Thymidine dépendante S* = Interprétation sensible prédictive R* = Interprétation résistante prédictive EBL7 = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres bêta-lactamases. IB = Bêta-lactamase inducible. Appareil à la place de quoi Sensible/positif avec des espèces connues pour avoir des bêta-lactamases inducibles: peut s'avérer devenir résistant à tous les antibiotiques bêta-lactamines. Le suivi des patients pendant/après la thérapie est recommandé. Éviter les autres combinaisons antibiotiques bêta-lactamines. * = Interprétation modifiée reportée Pour les isolats d'hémocultures et LCR, un test bêta-lactamases est recommandé pour l'espèce Enterococcus.																																																																																																																																																																																																									
NOM	souches	Echantillon	500706	Statut	Terminé																																																																																																																																																																																																				
ID patient	BOUMERDES	Prélév.		Date de sta...	20/04/2016																																																																																																																																																																																																				
Date de naiss...		Scé/Cham...	/	Recueilli																																																																																																																																																																																																					
Imprimé le 26/04/2016 12:49		Page 1 de 5		Technicien: _____																																																																																																																																																																																																					

Rapport de Microbiologie

NOM	souches	Echantillon	500706	Statut	Terminé
ID patient	BOUMERDES	Prélév.		Date de sta...	20/04/2016
Date de naiss...		Service Iso		Recueil	
Méd. traitant				Méd. presc	

200 E. coli					210 E. coli				
Antibiotique	CMI	Expert	Interp.	Origine	Antibiotique	CMI	Expert	Interp.	Origine
Amikacine	<=8		S		Amikacine	<=8		S	
Amox/Ac. Clav	>16/8		R		Amox/Ac. Clav	16/8		R	
Ampicilline	>16		R		Ampicilline	>16		R*	
Aztréonam	<=1		S		Aztréonam	>16		ESBL	
Céfalcotine	<=8				Céfalcotine	>16			
Céfazoline	16		I		Céfazoline	>16		R*	
Céfépime	>16		R		Céfépime	>16		R*	
Céfotaxime	<=1		S		Céfotaxime	>32		ESBL	
Céfotaxime/Ac. Clavul...	1				Céfotaxime/Ac. Clavul...	<=0.5			
Céfoxitine	<=8		S		Céfoxitine	16		I	
Ceftazidime	16		R		Ceftazidime	>16		ESBL	
Ceftazidime/Ac. Clavu...	>2				Ceftazidime/Ac. Clavu...	<=0.25			
Céfuroxime	16		R		Céfuroxime	>16		R*	
Ciprofloxacine	<=0.5		S		Ciprofloxacine	>2		R	
Ertapénème	>4		R		Ertapénème	<=0.5		S	
Gentamicine	<=2		S		Gentamicine	<=2		S	
Imipénème	>8		R		Imipénème	<=1		S	
Pip/Tazo	>64		R		Pip/Tazo	<=8		S	
Tigecycline	<=1		S		Tigecycline	<=1		S	
Tobramycine	<=2		S		Tobramycine	<=2		S	
Triméth/Sulfa	>2/38		R		Triméth/Sulfa	>2/38		R	

219 E. coli					328 K. pneumoniae				
Antibiotique	CMI	Expert	Interp.	Origine	Antibiotique	CMI	Expert	Interp.	Origine
Acide nalidixique	>16				Amikacine	<=8		S	
Amikacine	16		I		Amox/Ac. Clav	>16/8		R	
Amox/Ac. Clav	>16/8		R		Ampicilline	>16		R*	
Ampicilline	>16		R*		Aztréonam	>16		ESBL	
Aztréonam	>16		ESBL		Céfalcotine	>16			
Céfalcotine	>16				Céfazoline	>16		R*	
Céfazoline	>16		R*		Céfépime	>16		R*	
Céfépime	>16		R*		Céfotaxime	>32		ESBL	
Céfotaxime	>32		ESBL		Céfotaxime/Ac. Clavul...	<=0.5			
Céfotaxime/Ac. Clavul...	<=0.5				Céfoxitine	<=8		S	
Céfoxitine	>16		R		Ceftazidime	>16		ESBL	
Ceftazidime	>16		ESBL		Ceftazidime/Ac. Clavu...	2			
Ceftazidime/Ac. Clavu...	<=0.25				Céfuroxime	>16		R*	
Céfuroxime	>16		R*		Ciprofloxacine	>2		R	
Ciprofloxacine	>2		R		Ertapénème	<=0.5		S	

E	= Sensible	NR	= Pas reporté	Banc	= Données non disponibles, ou médicament pas recommandé ou testé
I	= Intermédiaire	—	= Pas testé	BLSE	= Bêta-lactamase à spectre étendu
R	= Résistant	POS	= Positif	BLAC	= Bêta-lactamase positif
CM	= négatif (prof)	NEG	= Négatif	TTG	= Souche Triméthidine dépendante

S* = Interprétation sensible précoce
R* = Interprétation résistante précoce
ESBL = Bêta-lactamase à spectre étendu. Tous de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres bêta-lactamases.
I3 = Bêta-lactamase inducible. Appartient à la pièce de quasi-sensibilité, et donc des espèces connues pour avoir des bêta-lactamases inducibles, peut s'avérer devenir résistant à tous les antibiotiques bêta-lactamines. Le suivi des patients pendant/après la thérapie est recommandé. Éviter les autres combinaisons antibiotiques bêta-lactamines.

* = Interprétation modifiée reportée

Pour les tests d'hydrolyse et LOR, un test bêta-lactamase est recommandé pour l'espèce Enterococcus.

NOM	souches	Echantillon	500706	Statut	Terminé
ID patient	BOUMERDES	Prélév.		Date de sta...	20/04/2016
Date de naiss...		Sci/Cham...	/	Recueil	

Imprimé le 26/04/2016 12:48 Page 2 de 5 Technicien: _____

Rapport de Microbiologie

N° M	souches	Échantillon	500706	Statut	Terminé
ID patient	BOUMERDES	Prélév.		Date de sta...	20/04/2016
Date de naiss...		Service Iso		Recueilli	
ID traitant				Méd. presc	

219 E. coli

Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine
Amikacine	1		I	
Gentamicine	>8		R	
Imipénème	<=1		S	
Pip/Tazo	<=8		S	
Tigecycline	<=1		S	
Tobramycine	>8		R	
Triméth/Sulfa	>2/38		R	

328 K. pneumoniae

Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine
Gentamicine	>8		R	
Imipénème	>8		R	
Pip/Tazo	<=8		S	
Tigecycline	<=1		S	
Tobramycine	>8		R	
Triméth/Sulfa	>2/38		R	

377 K. pneumoniae

Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine
Amikacine	<=8		S	
Amox/Ac.Clav	<=8/4		S	
Ampicilline	>16		R*	
Aztréonam	>16		ESBL	
Céfalotine	>16			
Céfazoline	>16		R*	
Céfépime	>16		R*	
Céfotaxime	>32		ESBL	
Céfotaxime/Ac. Clavul...	<=0.5			
Céfoxitine	<=8		S	
Ceftazidime	16		ESBL	
Ceftazidime/Ac. Clavu...	<=0.25			
Céfuroxime	>16		R*	
Ciprofloxacine	1		I	
Ertapénème	<=0.5		S	
Gentamicine	<=2		S	
Imipénème	<=1		S	
Pip/Tazo	<=8		S	
Tigecycline	<=1		S	
Tobramycine	<=2		S	
Triméth/Sulfa	>2/38		R	

385 Ac baumann/haem

Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine
Acide nalidixique	>16			
Amikacine	>32		R	
Amox/Ac.Clav	>16/8			
Ampicilline	>16			
Aztréonam	>16			
Céfalotine	>16			
Céfazoline	>16			
Céfépime	>16		R	
Céfotaxime	>32		R	
Céfotaxime/Ac. Clavul...	>4			
Céfoxitine	>16			
Ceftazidime	>16		R	
Ceftazidime/Ac. Clavu...	>2			
Céfuroxime	>16			
Ciprofloxacine	>2		R	
Ertapénème	>4			
Gentamicine	8		R	
Imipénème	>8		R	
Tobramycine	<=2		S	
Triméth/Sulfa	>2/38		R	

112 Ac baumann/haem

Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine
Acide nalidixique	>16			
Amikacine	>32		R	
Amox/Ac.Clav	>16/8			
Ampicilline	>16			
Aztréonam	>16			

S	= Sensible	NR	= Pas reporté	Blanc	= Données non disponibles, ou médicament pas recommandé ou testé
R	= Intermédiaire	—	= Pas testé	BLSE	= Bêta-lactamase à spectre étendu
R	= Résistant	POS	= Positif	Blac	= Bêta-lactamase positif
CMI	= mg/ml (ng/l)	NEG	= Négatif	TFG	= Souche Thymidine dépendante

S* = Interprétation sensible prédictive
 R* = Interprétation résistante prédictive
 BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres bêta-lactamases.
 BLT = Bêta-lactamase inducible. Appartient à la place de quot'sensible/quot; avec des espèces connues pour avoir des bêta-lactamases inducibles; peut s'avérer devenir résistant à tous les antibiotiques bêta-lactamines. Le suivi des patients pendant/après la thérapie est recommandée. Éviter les autres combinaisons antibiotiques bêta-lactamines.

* = Interprétation modifiée reportée

Pour les souches d'hémocultures et LCR, un test bêta-lactamase est recommandé pour l'espèce Enterococcus.

NOM	souches	Échantillon	500706	Statut	Terminé
ID patient	BOUMERDES	Prélév.		Date de sta...	20/04/2016
Date de naiss...		Sce/Cham...	/	Recueilli	

Imprimé le 26/04/2016 12:49

Page 3 de 5

Technicien:

Rapport de Microbiologie

NOM	souches	Echantillon	500706	Statut	Terminé
ID patient	BOUMERDES	Prélév.		Date de sta...	20/04/2016
Date de naiss...		Service Iso		Recueilli	
Méd. traitent				Méd. presc	

412 *Ac baumann/haem*

Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine
Céfazoline	>16			
Céfazoline	>16			
Céfépime	>16		R	
Céfotaxime	>32		R	
Céfotaxime/Ac. Clavul...	>4			
Céfoxitine	>16			
Ceftazidime	>16		R	
Ceftazidime/Ac. Clavu...	>2			
Céfuroxime	>16			
Ciprofloxacine	>2		R	
Ertapénème	>4			
Gentamicine	>8		R	
Imipénème	>8		R	
Tobramycine	>8		R	
Triméth/Sulfa	>2/38		R	

455 *E. coli*

Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine
Acide nalidixique	<=16			
Amikacine	<=8		S	
Amox/Ac. Clav	16/8		R	
Ampicilline	>16		R	
Aztréonam	<=1		S	
Céfazoline	>16			
Céfazoline	<=8		S	
Céfépime	<=1		S	
Céfotaxime	<=1		S	
Céfotaxime/Ac. Clavul...	<=0.5			
Céfoxitine	<=8		S	
Ceftazidime	<=1		S	
Ceftazidime/Ac. Clavu...	<=0.25			
Céfuroxime	<=4		S	
Ciprofloxacine	<=0.5		S	
Ertapénème	<=0.5		S	
Gentamicine	<=2		S	
Imipénème	<=1		S	

537 *P. aeruginosa*

Antibiotique	CMI	Expert	Interp	Origine
Amikacine	<=8		S	
Ampl/Sulbactam	>16/8			
Aztréonam	>16		R	
Céfépime	8		S	
Ceftazidime	4		S	
Ciprofloxacine	<=0.5		S	
Colistine	<=2		S	
Fosfomycine	<=16			
Gentamicine	4		S	
Imipénème	<=1		S	
Levofloxacine	2		S	
Meropénème	<=1		S	
Minocycline	>8			
Pip/Tazo	16		S	
Ticarcilline	<=64		S	
Tobramycine	<=2		S	
Triméth/Sulfa	>2/38			

S = Sensible
I = Intermédiaire
R = Résistant
CMI = concentration inhibitrice (mg/l)

NR = Pas rapporté
POS = Positif
NEG = Négatif

Bleu = Données non disponibles, ou médicament pas recommandé ou testé
BLSE = Beta-lactamase à spectre étendu
Bac = Beta-lactamase positif
TFO = Souche Thymidine dépendante

S⁺ = Interprétation sensible présumée

R⁺ = Interprétation résistante présumée

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres beta-lactamases.

Imprimé le 26/04/2018 12:49

Page 4 de 5

Technicien:

Rapport de Microbiologie

NOM	souches	Échantillon	500859	Statut	Terminé
ID patient	BOUMERDES	Prélév.		Date de sta...	04/05/2016
Date de naiss...		Service Iso		Recueilli	
Vied traitant				Méd. presc	

254	Escherichia coli	Statut:	Terminé	04/05/2016
-----	------------------	---------	---------	------------

254 E. coli

Antibiotique	CMi	Interp
Acide nalidixique	>16	
Amikacine	<=8	S
Amox/Ac. Clav	16/8	R
Ampicilline	>16	R*
Aztréonam	>16	ESBL
Céfalexine	>16	
Céfazoline	>16	R*
Céfépime	>16	R*
Céfotaxime	>32	ESBL
Céfotaxime/Ac. Clavulanique	<=0.5	
Céfoxitine	<=8	S
Ceftazidime	>16	ESBL
Ceftazidime/Ac. Clavulanique	<=0.25	
Céfuroxime	>16	R*
Ciprofloxacine	>2	R
Ertepénème	<=0.5	S
Gentamicine	>8	R
Imipénème	<=1	S
Pip/Tazo	<=8	S
Tigecycline	<=1	S
Tobramycine	>8	R
Triméth/Sulfa	<=2/38	S

S	= Sensible	NR	= Pas reporté	Blanc	= Données non disponibles, ou médicament pas recommandé ou testé
I	= Intermédiaire	---	= Pas testé	SL/SE	= Beta-lactamase à spectre étendu
R	= Résistant	POS	= Positif	Blac	= Beta-lactamase positif
CMi	= μ g/24h (mg/24h)	NEG	= Négatif	TPG	= Souche <i>Thyroglobuline</i> dépendante

S* = Interprétation sensible prédictive
 R* = Interprétation résistante prédictive
 EBL? = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres bêta-lactamases.
 IS = Beta-lactamase inducible. Appartient à la classe de "Sensible" avec des espèces connues pour avoir des bêta-lactamases inducibles; peut s'avérer devenir résistant à tous les antibiotiques bêta-lactamines. Le suivi des patients pendant/après le traitement est recommandé. Éviter les autres antibiotiques bêta-lactamines.

* = Interprétation modifiée reportée

Pour les isolats d'hémocultures et LCR, un test bêta-lactamase est recommandé pour l'espèce *Enterococcus*.

NOM	souches	Échantillon	500859	Statut	Terminé
ID patient	BOUMERDES	Prélév.		Date de sta...	04/05/2016
Date de naiss...		Sce/Cham...	/	Recueilli	

Imprimé le 04/05/2016 09:24

Page 1 de 1

Technicien: _____

Rapport de Microbiologie

IM	Echantillon	556158	Statut	Terminé
ID patient	BMRS222	Prélév.	Date de sta.	12/05/2016
Date de naiss.	Service Iso	Recueilli	Méd. presc.	
ID traitant				

GJ	Staphylococcus aureus	Statut	Terminé	12/05/2016
----	-----------------------	--------	---------	------------

J	S. aureus	CMI	Interp.
Acide fusidique	16	I	
Mikacine	>32	R	
max/Ac. Clav	>4/2	R	
Ciprofloxacine	>2	R	
Clindamycine	>2	R	
aptomycine	>4		
épi-stago Céfoxitine	>4	POS	
Erythromycine	>4	R	
fosfomycine	64	R	
Jentamicine	>8	R	
Lévofloxacine	4	R	
Linézolide	>4	R	
Aspirocine	>256	R	
nitrofurantoin	>64		
Oxacilline	2	R	
Penicilline	>0.25	BLAC	
Rifampicine	<=0.5	S	
Telcoplanine	>16	R	
Tétracycline	>8	R	
Tobramycine	>8	R	
Triméth/Sulfa	>4/76	R	
Vancomycine	>16	R	

S	Sensible	R/R	Pas de cone	Blanc	Données non disponibles, ou médicament non recommandé ou testé
I	Intermédiaire	—	Pas de cone	BLSC	Données non disponibles, ou médicament non recommandé ou testé
R	Résistant	POS	Positif	Jaune	Données non disponibles, ou médicament non recommandé ou testé
CM	résistant (non)	NEG	Négatif	IFC	Données non disponibles, ou médicament non recommandé ou testé

S	Interprétation sensible ordinaire
R	Interprétation résistante ordinaire
I	Interprétation intermédiaire ordinaire
CM	Interprétation résistante ordinaire
BLSC	Interprétation résistante ordinaire
IFC	Interprétation résistante ordinaire

S	Interprétation sensible ordinaire
R	Interprétation résistante ordinaire
I	Interprétation intermédiaire ordinaire
CM	Interprétation résistante ordinaire
BLSC	Interprétation résistante ordinaire
IFC	Interprétation résistante ordinaire

S	Interprétation sensible ordinaire
R	Interprétation résistante ordinaire
I	Interprétation intermédiaire ordinaire
CM	Interprétation résistante ordinaire
BLSC	Interprétation résistante ordinaire
IFC	Interprétation résistante ordinaire

NOM	Echantillon	556158	Statut	Terminé
ID patient	BMRS222	Prélév.	Date de sta.	12/05/2016
Date de naiss.	Sce/Cham	Recueilli		

Imprimé le 12/05/2016 10:04	Page 1 de 1	Technicien:
-----------------------------	-------------	-------------

Rapport de Microbiologie

NOM		Échantillon	555981	Statut	Terminé
ID patient	BOUMERDES 920	Prélév.		Date de sta...	04/05/2016
Date de naiss...		Service Iso		Recueilli	
Méd traitant				Méd. presc	

CJ	Staphylococcus aureus	Statut:	Terminé	04/05/2016
----	-----------------------	---------	---------	------------

CJ S. aureus

Antibiotique	CMI	Interp
Acide fusidique	<=2	S
Amikacine	<=8	S
Amox/Ac.Clav	<=4/2	R*
Ciprofloxacine	<=1	S
Clindamycine	<=0.25	S
Daptomycine	<=1	S
Dépistage Céfoxitine	>4	POS
Erythromycine	<=0.5	S
Fosfomycine	<=32	S
Gentamicine	<=1	S
Lévofloxacine	<=1	S
Linézolide	<=2	S
Mupirocine	<=4	S
Nitrofurantoïne	<=32	
Oxacilline	2	R*
Pénicilline	>0.25	R*
Rifampicine	<=0.5	S
Telcoplanine	<=1	S
Tétracycline	8	I
Tobramycine	<=1	S
Triméth/Sulfa	<=1/19	S
Vancomycine	1	S

S	= Sensible	NR	= Pas reporté	Blanc	= Données non disponibles, ou médicament pas recommandé ou testé
I	= Intermédiaire	---	= Pas testé	BLSE	= Bêta-lactamase à spectre élargi
R	= Résistant	POS	= Positif	Rlac	= Bêta-lactamase positif
CMI	= mg/ml (mg/l)	NEG	= Négatif	TFG	= Souche Thymidine dépendante

S* = Interprétation sensible prédite
 R* = Interprétation résistant prédite
 EBL? = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres bêta-lactamases.
 IB = Bêta-lactamase inducible. Appartient à la place de "Sensible" avec des espèces connues pour avoir des bêta-lactamases inducibles; peut s'avérer devenir résistant à tous les antibiotiques bêta-lactamines. Le suivi des patients pendant/après la thérapie est recommandé. Éviter les autres combinaisons antibiotiques bêta-lactamines.

* = Interprétation modifiée reportée

Pour les isolats d'hémocultures et LCR, un test bêta-lactamases est recommandé pour l'espèce Enterococcus

NOM		Échantillon	555981	Statut	Terminé
ID patient	BOUMERDES 920	Prélév.		Date de sta...	04/05/2016
Date de naiss...		Scé/Cham...	/	Recueilli	

Imprimé le 04/05/2016 12:07

Page 1 de 1

Technicien: _____

Rapport de microbiologie

NOM		Echantillon	556062	Statut	Terminé
ID patient	BOUMERDES377	Prélèvé		Date de sta.	06/05/2016
Date de naiss.		Service iso		Recueilli	
Méd. traitant				Méd. presc	

CV	Pseudomonas aeruginosa	Statut	Terminé	06/05/2016
----	------------------------	--------	---------	------------

CV P. aeruginosa

Antibiotique	CMi	Interp
Amikacine	<=8	S
Ampic/Sulbactam	>16/8	
Aztréonam	4	S
Cefépime	2	S
Ceftazidime	2	S
Ciprofloxacine	<=0,5	S
Colistine	<=2	S
Fosfomycine	32	
Gentamicine	4	S
Imipénème	>8	R
Lévofloxacine	<=1	S
Méropénème	4	I
Minocycline	>8	
Pip/Tazo	<=8	S
Ticarcilline	<=16	S
Tobramycine	<=2	S
Triméth/Sulfa	>2/38	

S	= Sensible	N.R.	= Pas noté	Sens	= Données non disponibles ou méconnaissance des recommandations ou tests
I	= Intermédiaire	POS	= Positif	BLSE	= Bêta-lactamase à spectre étendu
R	= Résistant	NEG	= Négatif	BLac	= Bêta-lactamase localisée
CMi	= Concentration minimale inhibitrice (mg/l)			TPG	= Souche <i>Thymidine</i> dépendante

S⁺ = Interprétation sensible précise
 S⁺ = Interprétation résistante précise
 BLSE = BLSE soupçonnées. Tests de confirmation nécessaires pour différencier les BLSE des autres bêtalactamases
 BLac = Bêtalactamase localisée. Appartient à la place de "Sensible" avec des espèces connues pour avoir des bêtalactamases inducibles. Peut s'avérer devenir résistant à tous les antibiotiques bêtalactamines. Le suivi des patients pendant la thérapie est recommandé. Éviter les autres combinaisons antibiotiques bêtalactamines.
 TPG = Interprétation modifiée reportée

Pour les tests chémoculaires et LCR, un test bêtalactamase est recommandé pour l'espèce *Enterobacter*

NOM		Echantillon	556062	Statut	Terminé
ID patient	BOUMERDES377	Prélèvé		Date de sta.	06/05/2016
Date de naiss.		Scé/Cham.	/	Recueilli	

Imprimé le 08/05/2016 12:14

Page 1 de 1

Technicien:

Annexe 6

Composition en paires de bases des séquences consensus des gènes codant la sous unité ribosomale 16S des souches D2O et D8O.

```
GGAACGACTGCTAATGCCCCATATGCCGAGAGGTGAAATGTTTTTCGCC
TAAGGATGAACTCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTAGTGTAATGGACTACCAAGGCGACGA
TCAGTAGCTGGTCTAAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCC
TACGGGAGGCGAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGGAGCAACGCCG
CGTGAGGGAGGAAGGCCTTAGGGTTGTAAACCTCTTTTCTCTGGGAAGAAGAACTGACGG
TACCAGAGGAATAAGCCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAGACGGAGGAGGC
AAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAGGCGGTTTATTAAGTCTGTTGT
CAAAGCCCACAGCTCAACTGTGGATCGGCAATTGAAACTGGTGAACCTTGAGTGTGGTAGG
GGTAGAGGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGAAGAACACCAGTGG
CGAAGGCGCTCTACTGGGCCACAACCTGACGCTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAAAGG
GATTAGATACCCCTGTAGTCCTAGCTGTAAACGATGGATACTAGGTGTTGGACGTATCGA
CCCCTGCAGTACCGTAGCTAACGCGTTAAGTATCCCGCCTGGGGAGTACGCACGCAAGTG
TGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGGATGTGGTTTAATTGCGA
TGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATGTACGAATCTTTGTGAAGCAGAGAG
TGCCTTCGGGAGCGTGAACACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATG
TTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGTTTTTAGTGGCCATCATTAAGTTGGGC
ACTCTAAAGAGACTGCCGTGGACAACACGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
GCCCCTTACGTCTTGGGCTACACACGTCTTACAATGCTACAGACAGAGGGCAGCAAGCGC
GCGAGTGCAAGCAAATCCCATAACTGTGGCTCAGTTCAGATTGCAGGCTGCAACTCGCC
TGCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTGAGCATACTGCGGTGAATACGTTCCCG
GGCCTTGTAACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTTGGCCACGCCCGAAGTCGTTACTCT
AACCGTTCGCGGAGGAGGGCGCCGAAGGCAGGGCTGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAA
GGTAGCCGTACCGGAAGGTGTGGCTGGATCACCTCCTTTTAGGGAGACCTACC
```

Composition en paires de bases de la séquence consensus du gène codant la sous unité ribosomale 16S de la souche **D2O**.

```
GGAACGGTTCGCTAATACCGGATGAGCCGCAAGGTAAAAGGATTTATCGCCAAAGGAT
GAGCTCGCGTCGGATTAGCTAGTTGGTAGTGTAATGGACTACCAAGGCGACGATCCGTAG
CTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGA
GGCAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGG
GAGGAAGGTCTGTGGATTGTAAACCCCTTTTGACTGGGAAGAACAATGACGGTACCAG
TCGAATCAGCCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGAGGCAAGCGT
TATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAGGTGGTTTAGCAAGTCTGCTGTCAAAGC
GCGAAGCTCAACTTCGTATAGGCCGTGGAACCTGCTGAACCTGAGTGTGATAGGGGCAGA
GGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATTGGGAAGAACACCGGTGGCGAAAG
CGCTCTGCTGGGTCATAACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAAAGGGATTAG
ATACCCCTGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGGTACTAGGCGTTGACCGTATCGACCCGGT
CAGTGCCGAGCTAACGCGTTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGCTCGCAAGAGTGAAAC
TCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATGTGGTTAATTCGATGCAAC
GCGAAGAACCTTACCAGGGCTTGACATGTCGCGAACCTTCATGAAAGTGAAGGGTGCCCTT
CGGGAGCGCGAACACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGT
TAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGTCGTTAGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTG
GCGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGCCCTT
TACGTCCTGGGCTACACACGTACTACAATGCTGCGGACAAAGGGAAGCCAACCAGCGATG
GTGCGCGAATCCCATAAACCGTGGCTCAGTTCAGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATG
AAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTGAGCATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTT
GTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGCCACGCCCGAAGTCGTTACTCCAACCGC
AAGGAGGAGGGCGCCGAAGGCAGGGCTGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCG
TACCGGAAGGTGTGGCTGGATCACCTCCTTTTAGGG
```

Composition en paires de bases de la séquence consensus du gène codant la sous unité ribosomale 16S de la souche **D8O**.