

## Évaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *Padina pavonica*, récoltée sur les côtes libanaises

Asma CHBANI<sup>1\*</sup>, Hiba MAWLAWI<sup>2</sup> et Samira ETAHIRI<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Université Libanaise, Faculté de Santé Publique III, Hôpital de Tripoli, Laboratoire de microbiologie, Liban

<sup>2</sup> Université Libanaise, Faculté de Santé Publique III, Hôpital de Tripoli, Laboratoire de biochimie, Liban

<sup>3</sup> Université Chouaib Doukkali, Faculté de Sciences, Laboratoire de biochimie marine, BP 20, el Jadida, Maroc

\* Correspondance, courriel : [asma\\_sh@hotmail.com](mailto:asma_sh@hotmail.com)

### Résumé

Le criblage de l'activité antibactérienne in vitro des extraits de *Padina pavonica*, récoltée sur les côtes méditerranéenne d'El Mina-Tripoli, Liban, a été effectué sur cinq souches cliniques des bactéries: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaricus* et *Enterococcus faecalis*. L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion sur des disques de cellulose. Les résultats ont révélé que l'extrait total de *Padina pavonica* présente une activité importante contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* alors qu'aucune activité n'a été enregistré contre *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaricus* et *Enterococcus faecalis*. Sur les trois extraits de l'algue préparés par extraction successive dans l'éther de pétrole, le chloroforme et le méthanol, l'extrait le plus actif contre *klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* a été celui obtenu avec l'éther de pétrole. Les extraits obtenus dans le chloroforme et le méthanol n'ont montré aucune activité contre les souches étudiées.

**Mots-clés :** algue brune, *Padina pavonica*, activité antibactérienne, côte méditerranéenne libanaise.

### Abstract

**Inhibiting activity evaluation of brown seaweed extracts, *Padina pavonica*, collected from the shores of Lebanon**

In vitro antibacterial activity study was conducted on the extracts of *Padina pavonica*, collected from the shores of el Mina - Tripoli, Lebanon, against clinical origins strains of bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaricus* and *Enterococcus faecalis*). The antibacterial activity was evaluated through the disk diffusion method. The results showed that the total extract of *Padina pavonica* presented an important activity against *Pseudomonas aeruginosa*, while no activity was registered against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaricus* and *Enterococcus faecalis*. Three extracts of *Padina pavonica* were obtained with successive extraction in petroleum ether, chloroform and methanol. The most active extract against *klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* was obtained with the petroleum ether. Extracts obtained with chloroform and methanol showed no activity against the strains selected in this study.

**Keywords :** brown seaweed extracts, *Padina pavonica*, antibacterial activity, Lebanese coast.

## 1. Introduction

Le milieu marin et les organismes qui l'habitent constituent une source infinie de molécules actives à structure chimique originale [1,2] Ces composés sont synthétisés par des voies métaboliques différentes de celles observées en milieu terrestre. Parmi les organismes marins, les algues, qui sont le plus souvent fixées sur un substrat, ont élaborés des défenses chimiques pour empêcher leur colonisation par d'autres espèces, y compris les microorganismes [3,4]. De nombreux travaux [5] répertoriés et résumés ont mis en évidence l'activité biologique de métabolites extraits à partir de macro algues.

L'utilisation des algues marines à des fins thérapeutiques est loin d'être un phénomène nouveau. Si les principes actifs extraits d'algues utilisés en pharmacie sont peu nombreux, les travaux scientifiques en cours sont importants. Des milliers de molécules ont ainsi été identifiées. Ce sont des polysaccharides, des lipides ou encore de petits métabolites de nature phénolique [6] terpénique [7,8]. Les activités décrites sont très diverses : antimicrobiennes [9,10] anti-malariales [11], antioxydant [12-14], anti-inflammatoire [15], cytotoxiques [16], antivirales [17] ainsi que d'autres activités.

Face à l'apparition de formes résistantes de plusieurs bactéries à certains antibiotiques, la recherche de nouvelles molécules actives est devenue une nécessité. Cette étude tente de trouver une activité antibactérienne chez l'algue brune *Padina pavonica*, récoltée sur les côtes libanaises.

## 2. Matériel et méthodes

### 2-1. Récolte de l'algue

L'algue *Padina pavonica* a été récoltée en avril 2008 sur les côtes d'El Mina (34°26'N-35°50'E) à Tripoli au Liban. La matière fraîche a été rincé 3 fois à l'eau douce, puis pesée et séchée durant 72 h dans une étuve à 50°C. Après séchage, l'algue est broyée à l'aide d'un mixeur puis placée dans un flacon stérile et conservée ensuite à l'abri de la lumière au réfrigérateur à une température de 6 °C.

### 2-2. Préparation des extraits de l'algue

L'extrait total est obtenu en ajoutant 1g de poudre à 30 mL de méthanol. Le mélange obtenu est soumise ensuite à une agitation continue à l'abri de la lumière pendant 48h à température ambiante, ensuite filtration sur papier Wattman N°1 puis évaporation sous pression réduite avec un évaporateur rotatif.

Trois autres extraits sont obtenus par extraction successive dans l'éther de pétrole, le chloroforme puis dans le méthanol selon le protocole suivant : 2g de poudre d'algue est placé dans un soxhlet, puis le ballon est rempli par 150 mL d'éther de pétrole, le mélange est porté à ébullition pendant une heure, la masse du résidu obtenue après évaporation du solvant est extraite successivement par 150 ml chloroforme puis par 150 mL de méthanol. Les trois extraits obtenus sont conservés dans un endroit sec pour être testé ultérieurement.

### 2-3. Les bactéries testées

Les souches testées sont des isolats cliniques. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaricus* et *Enterococcus faecalis*. Ces bactéries sont mis à incuber dans un premier temps dans du bouillon nutritif dans une étuve à 37°C pendant 18h. Elles sont ensuiteensemencées par la

méthode des quadrants sur un milieu BCP (Bromo-cresol pourpre) de façon à obtenir des colonies bien isolées.

## 2-4. Test antibactérien

L'activité antibactérienne des extraits est mise en évidence par la méthode de diffusion sur des disques de cellulose [18], de gélose de Muller Hinton [19]. 2 à 3 colonies de chaque bactérie sont ensuite prélevées de la gélose BCP et transférées dans 9 mL d'eau distillée stérile ajustée à une turbidité de 0,5 par la méthode de Mac Farland standard. Les boîtes de Pétri contenant la gélose Muller Hinton sont inondées par une suspension bactérienne différente. Des disques stériles de papier filtre sont imprégnés de 50µl de différents extraits d'algue. Ces disques sont ensuite déposés sur la surface de la gélose de Muller Hinton inondées par les suspensions bactériennes. Les boîtes sont finalement incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h. L'activité antibactérienne est évaluée par la mesure de la zone de clarification en mm tout autour des disques. Des disques de papier filtre imprégnés de 50µl des différents solvants (méthanol, chloroforme et éther de pétrole) serviront de témoins.

## 3. Résultats et discussion

Les résultats du test antibactérien de l'extrait total de l'algue *Padina pavonica* et celui des différents extraits (méthanol, éther de pétrole et chloroforme) vis-à-vis de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaricus* et *E. faecalis* sont regroupés dans le **Tableau 1**.

Contre *E. coli* bactérie gram négative, l'extrait total exerce une activité moyenne alors que celui extrait avec le chloroforme a montré une faible activité. L'extrait avec le méthanol n'a exercé aucune action inhibitrice alors que l'extrait avec l'éther de pétrole présente une activité importante, le diamètre d'inhibition obtenu est de 18.2 mm.

*P. aeruginosa* qui est également une bactérie gram négative a montré une résistance vis-à-vis des extraits obtenus avec le méthanol et le chloroforme alors qu'une activité intéressante est observée pour l'extrait total et l'extrait préparé dans l'éther de pétrole.

**Tableau 1:** Diamètre d'inhibition obtenu pour les différents extraits de l'algue *Padina pavonica* vis-à-vis des différentes souches utilisées

Bactéries testées	Activité antibactérienne des différents extraits			
	Extrait total	Éther de Pétrole	Chloroforme	Méthanol
<i>E. coli</i>	11.3 mm	18.2 mm	6.2 mm	R
<i>P. aeruginosa</i>	16.4 mm	17.2 mm	R	R
<i>K. pneumonia</i>	R	17.4 mm	5.8 mm	7.3 mm
<i>P. vulgaricus</i>	R	18.3 mm	5.7 mm	R
<i>E. faecalis</i>	R	11.1 mm	11.2 mm	R

R : Souches bactériennes résistantes

L'extrait total de l'algue *Padina pavonica* n'a exercé aucune activité inhibitrice sur les bactéries *Klebsiella*, *Proteus* et *Enterococcus*. L'extrait avec le chloroforme a montré une faible activité contre *Klebsiella* et

*Proteus* et une action modérée contre *Enterococcus*. L'extrait avec l'éther de pétrole a inhibé de façon significative la croissance des bactéries *Klebsiella* et *Proteus* et moyennement celle d' *Enterococcus*. Sur les 4 extraits testés, une activité antimicrobienne a été enregistré de l'extrait total par le méthanol sur les bactéries gram négative; *E. coli* et *P. aeuruginosa*. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Febles [20,21] dans lesquelles il a été montré que le méthanol est le meilleur solvant pour l'extraction des molécules douées d'une activité antibactérienne. L'effet inhibiteur de cet extrait est probablement du aux composés phénoliques, dont les algues brunes contiennent des teneurs élevées [22]. D'autres études [23] ont montré que le chloroforme était le solvant le plus adapté à cet usage, alors que pour *Delaisaissi* [24], le meilleur solvant est l'acétone. Dans notre étude, l'extrait de *Padina pavonica* obtenu à partir de l'éther de pétrole a présenté une inhibition importante de la croissance de toutes les souches bactérienne étudiées. L'éther de pétrole étant un solvant apolaire, il a certainement extrait les composés lipidiques. Hellio et al [25] ont montré que ces composés présentaient une importante activité antimicrobienne. D'autres substances de type terpéniques ont montré un effet inhibiteur vis-à-vis de certaines bactéries [8,26,27]. Les extraits chloroformiques de *Padina pavonica* ne présentent aucune activité antibactérienne significative vis-à-vis des souches étudiées. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par *Etahiri*[21].

#### 4. Conclusion

Plusieurs études menées par *Deslandes et Rao* [6,28] ont montré une activité d'extrait chloroformique d'algues brunes sur une ou plusieurs bactéries. Néanmoins ces résultats sont difficilement comparables étant donné que les méthodes utilisées sont différentes. Le choix du protocole d'extraction et plus particulièrement celui du solvant est très important [23]. De plus d'autres facteurs tel que l'espèce algale, la souche bactérienne, le conditionnement de l'algue [28], la saison de récolte [29,30] peuvent influencer également les résultats de tests antibactériens. En outre, il serait intéressant de pouvoir mener d'une part un screening antibactérien mensuel afin de déterminer à quelle période de l'année, la récolte de l'algue est la plus avantageuse et d'autre part réaliser le fractionnement, la purification et la caractérisation des composés actifs dans l'optique d'une valorisation des ces composés naturels.

#### Références

- [1] - K. W. GLOMBITZA, H. STOFFELEN, U. MURAWISKI, J. BIELACZEK, and H. EGGE, Antibiotics from algae Bromophenols from Rhodomelaecea, *Planta Medica*, 25 (1974) 105-114.
- [2] - A. J. SMIT, Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products, *Journal of applied Phycology*, 16 (2004) 254-262.
- [3] - V. J. PAUL, W. FENICAL, Natural products chemistry and chemical defence in tropical marine algae of the phylum chlorophyta, *Bioorganism Marina Chemistry*, 1 (1987) 1-29.
- [4] - P. D. STEINBERG, S. Schneider KJELLEBERG, Chemical defences of seaweeds against microbial colonization, *Biodegradation*, 8 (1997) 211–220.
- [5] - D. J. FAULKNER, Marine natural products, *Naturals Products Report*, 19 (2002) 1- 48.
- [6] - E. DESLANDES, E. PONDAVEN, T. AUPERIN, C. ROUSSAKIS, J. GUÉZENNEC, V. STIGER and C. PAYRI, Preliminary study of the in vitro anti-proliferative effect of a hydroethanolic extract from the subtropical seaweed *Turbinaria ornata* (Turner J. Agardh) on a human non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line (NSCLC-N6), *Journal of Applied Phycol.* 12 (2000) 257–262.

- [7] - B. G. FLEURY, A. KELECOM, R. C. PERIERA, V. L. TEIXERA, Polyphenol, terpene and sterols in Brazilian Dictyotales and Fucales (Pheophyta), *Bot Mar.* 37 (1994) 457- 462.
- [8] - B. N. RAVI, P. T. MURPHY, R. O. LIDGARD, R. G. WARREN, R. J. C. WELLS, 18 terpenoid metabolites of the brown alga *Cystophora moniliformis*, *Aust. J. Chem.* 35 (1982) 171-182.
- [9] - J. L. REICHEL, M. A. BOROWITZKA, Antimicrobial activity from marine algae: Result of a large screening programme, *Hydrobiol.* 1 (1984) 116/117 158-168.
- [10] - S. ETAHIRI, A. EL KOURI, V. BULTEL-PONCE, M. GUYOT, O. ASSOBEI, Antibacterial bromophenol from the marine red alga *Pterosiphonia complanata*, *Natural Product communication* 2 (2007) 749-752.
- [11] - A. D. WRIGHT, G. M. KONIGHT, C. K. ANGERHOFER, P. GREENIDGE, A. LINDEN, R. DESQUEROUX-FAUNDEZ, Anti-malarial activity: the search for marine-derived natural products with selective anti-malarial activity, *Journal of Natural Products.* 59 (1997) 710-716.
- [12] - S. ETAHIRI, V. BULTEL-PONCÉ, C. CAUX, M. GUYOT, New bromoditerpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*, *Journal of Natural Products.* 64(1-2) (2001) 1024-1027.
- [13] - M. C. ROCHA DE SOUZA, C. TEXEIRA-MASQUES, C. M. GUERA-DORE, F. R. FERREIRA DA SILVA, H. A. OLIVERA-ROCHA, E. LISBOA -LEITE, Antioxydant activity of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds, *Journal of applied Phycology*, 19 (2007) 153-160.
- [14] - D. ZUBIA, D. ROBLEDO, Y. FREILE-PELEGRIN, Antioxydant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan peninsula Mexico, *Journal of Applied Phycology*, 19 (2007) 449-458.
- [15] - S. ETAHIRI, V. BULTEL- PONCE, O. ASSOBEI, Une nouvelle molécule à activité antibiotique à partir de l'algue rouge *Pterosiphonia complanata*, *Brevet Marocain* (2004) N° 27732.
- [16] - L. KTARI, M. GUYOT, A cytotoxic oxysterol from the marine algae *Padina pavonica*, *Journal of Applied Phycology*, 11 (1999) 511-513.
- [17] - S. CACAMESSE, R. AZZOLINA, G. RURNARI, M. GORMACI, S. GRASSO, Antimicrobial and antiviral activities of extracts from Mediterranean algae, *Bot. Mar.* 23 (1980) 285-288.
- [18] - A. W. BAUER, W. M. KIRBY, J. C. SHERRIS, C. TURCK, Antibiotic susceptibility testing by a standardized disk method, *American Journal of Clinical Pathology*, (1966) 493-495.
- [19] - P. A. WAYNE, Reference method for disk diffusion antifungal susceptibility testing of yeasts, Approved standard M44 – P, *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, (2003).
- [20] - C. I. FEBLES, A. ARIAS, A. S HARDISSON LOPEZ, and M. C. GIL-RODRIGEZ, Antimicrobial activity of extracts from some canary species of phaeophyta and chlorophyta, *Phytotherapy, Research*, 9 (1995) 385-387.
- [21] - S. ETAHIRI, V. BULTEL-PONCE, A. ELKOURI, O. ASSOBEI, D. ZAOU, M. GUYOT, Antibacterial Activities of Marine algae from the Atlantic Coast of Morocco, *Marine life*, 13(1-2) (2003) 3-9.
- [22] - K. W. GLOMBITZA, H. A. HOPPE, T. LEVING, Y. TANAKA, Antibiotics from algae Marine algae in pharmaceutical, *Science*(1979) 303-342.
- [23] - V. M. SASTRY, G. R. K. RAO, Antibacterial substances from marine algae: Successive extraction using Benzene, chloroform and methanol, *Bot. Mar.* 37 (1994) 357-360.
- [24] - G. DELARAISSASSI, S. ALVAREZHERMANDEZ, C. LOZANORAMIREZ, Antibacterial activity of marine algae from Oxaca. Tropical pacific of Mexico, *Revista de biologia Tropical*, 44 (1996) 895-898.
- [25] - C. HELLIO, G. BREMER, A. M PONS, Y. LE GAL, N. BOURGOUGNON, Inhibition of the development of microorganisms (bacteria and fungi) by extracts of marine algae from Brittany France, *Applied Microbiology and biotechnology* 54 (2000) 543-549.
- [26] - W. FENICAL, Natural products Chemistry in the marine environment, *Science* 215(1982) 923-928.
- [27] - J. MOREAU, D. PESANDO, B. CARAM, Antifungal and antimicrobial screening of Dictyotales from the French Mediterranean Coast, *Hydrobiol.* 116-117 (1984) 521-524.

- [28] - P. RAO, S. M. KAMARKAR, Antibacterial substances from brown algae. Efficiency of solvents in the evaluation of antibacterial substances from *Sargassum johnstonii* Setchellet Gardner, *Botanica Marina* 29 (1986) 503-507.
- [29] - K. PADMAKUMAR, K. AYYAKKANNU, Seasonal variation of antibacterial and antifungal activities of the extracts of marine algae from Southern Coast of India, *Botanica Marina* 40 (1997) 507-515.
- [30] - A. EL KOURI, V- BULTEP-PONCE, O. ASSOBBHEI, S. EAHIRI, Etude de la variation saisonnière de l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire chez quelques espèces d'algues marines de la cote Atlantique Marocaine, *Review of Biology and Biotechnology* 3 (1)(2004) 29-36.