

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



Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie
Spécialité/Option: Biologie Santé et Hygiène Hospitalière
Département: Biologie

Thème

Etude de l'effet de l'huile d'olive sur l'action des antibiotiques sur les bactéries

Présenté par : -Khelifa Rima
- Mendjel Somia
- Oumeddour Besma

Devant la commission composée de :

Braik A.	Président	Université de Guelma
Benouareth D.E.	Encadreur	Université de Guelma
Merabet R.	Examineur	Université de Guelma
Ayed H.	Membre	Université de Guelma
Abdaoui W.	Membre	Université de Guelma
Boussadia M.	Membre	Université de Guelma

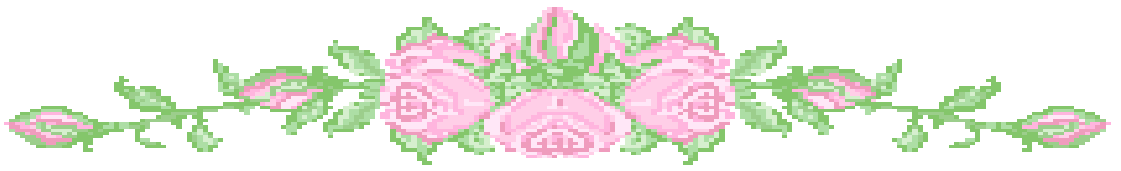
Juin 2017

Résumé:

Dans ce travail nous avons évalué la sensibilité de 2 souches bactériennes vis-à-vis de l'huile d'olive et d'un groupe d'antibiotiques, ensuite nous avons recherché l'effet de l'huile d'olive sur l'action d'un antibiotique.

La combinaison a montré sur milieu liquide un effet inhibiteur de l'huile d'olive sur l'action de la Gentamycine sur les 2 souches *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Mots clés: Huile d'olive, Antibiotique, Gentamicine, combinaison.



Remerciements

*Au terme de ce travail je tiens à remercier tous les intervenants et toutes les personnes qui de près ou de loin, ont contribué à sa réalisation, en particulier :
Tout d'abord, nous remercions Dieu tout puissant pour son amour infini et pour son projet de bonheur dans notre vie, pour tout puissant le courage qu'il nous a donné tout au long de travail sur ce modeste travail.*

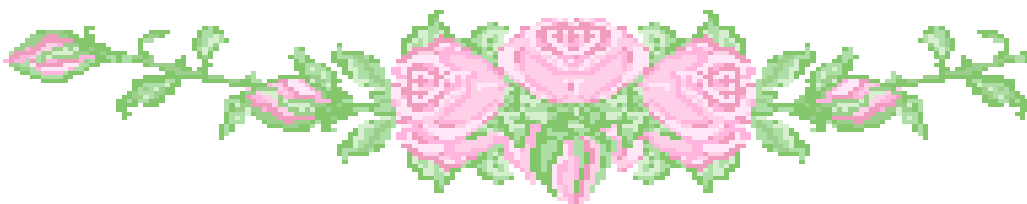
*Nous tenons à remercier vivement notre encadreur, Pr.
BENOUARETH D. E. pour leurs suivis, leurs aides, ses remarques judicieuses et ses conseils précieux qu'ils nous ont prodigués avec gentillesse tout au long de notre travail.*

*Nous remercions l'ensemble du personnel de département de biologie
(étudiants, Enseignants, techniciens, secrétaires).*

Nos collègues de fin de cycle, qui nous ont donné leurs encouragements toute la durée de réalisation de ce travail.

Nos familles, qui durant nos études, nous ont toujours donné la possibilité de faire ce que nous voulions et qui ont toujours cru en nous.

Toutes les personnes qui nous ont aidé et soutenu de près ou de loin tout le long de ce travail



Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
 Chapitre I : Généralités sur les antibiotiques	
I.1 Définitions des antibiotiques	2
I.2. Classifications des antibiotiques.....	2
I.3. Mode d'actions des antibiotiques	4
I.4. La résistance aux antibiotique	6
I.5. Mécanisme de résistance	8
 Chapitre II : Généralités sur les huiles d'olives	
II.1 Définitions des huiles d'olive.....	11
II.2 Classification des huiles d'olive.....	11
II.3 La composition chimiques d'huile d'olive.....	12
II.4 Procédés de fabrication de l'huile d'olive.....	15
II.5 Les caractéristiques de l'huile d'olive.....	16
II.5.1 Caractères organoleptique	16
II.5.2 Caractères physicochimique	16
II.6 Effets bénéfiques de l'huile d'olive sur la santé	17
 Chapitre III : Matériel et Méthodes	
III.1 Matériel.....	19
III.2 Méthodes.....	20
 Chapitre IV: Résultats et Discussion	
IV.1 l'antibiogramme.....	23
IV.2 Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive brut.....	27
IV.3 Test de l'activité antibactérienne de l'éthanol	28
IV.4 l'association de l'huile d'olive avec les antibiotiques	30
IV.5 Test sur milieu liquide	31
Conclusion	33
 Références bibliographiques	



Liste des tableaux

Tableau 1: Pourcentage d'acidité des différents types d'huile.....	16
Tableau 2: résultats d'antibiogramme de la présence ou l'absence des zones d'inhibition des antibiotiques testé	24
Tableau3:Evaluation de l'activité d'antibiotique CTX avec l'huile d'olive diluée Par l'éthanol.....	27
Tableau 4:Evaluation de l'activité d'antibiotique GN avec l'huile d'olive diluée Par l'éthanol.....	27
Tableau 5:Evaluation de l'activité d'antibiotique VA avec l'huile d'olive diluée Par l'éthanol.....	27
Tableau 6: nombre de bactéries en présence de la gentamycine.....	29
Tableau 7 : nombre de bactéries en présence d'HO.....	30
Tableau 8:Résultats de la combinaison.....	31

Liste des figures

Figure 1: Mode d'action des antibiotiques.....	4
Figure 2 : Modification de la cible de l'antibiotique.....	9
Figure 3: Antibiogramme des souches étudiées en présence des différents Antibiotiques.....	23
Figure 4 : résultat de l'activité de l'huile d'olive brut sur les germes étudié.....	25
Figure 5: l'activité des antibiotiques avec l'huile d'olive Diluée par l'éthanol	26
Figure 6: résultat de l'association de l'huile d'olive avec les antibiotiques	28
Figure 7 : Nombre de bactéries en présence de volumes croissante de la Gentamycine.....	29
Figure 8 : Nombre de bactéries en présence de volumes croissante d'HO.....	30
Figure 9 : Résultats de la combinaison de la gentamycine avec l'huile d'olive.....	31

Liste des abréviations

- AK** : Amikacine .
- AMC** : Amoxicilline + Ac.
- ATB** : Antibiotique.
- ATCC** : American Type Culture Collection.
- CA-SFM** : société française de microbiologie.
- CFM** : Cefixime.
- CMI** : Concentration minimale inhibitrice.
- CN** : Gentamycine.
- CT** : Céfotaxime.
- CZ** : Cefazoline.
- DI** : Diamètre d'inhibition.
- H.O** : Huile d'olive.
- MH** : Müller-Hinton.
- Mg** : milligramme.
- ML** : millilitre.
- NTX** : Nitroxoline.
- P (G)** : Pénicilline (G).
- PAB** : para-amino-benzène-.
- VA** : Vancomycine.

Introduction

Ce n'est pas un secret, les gens sont constamment à la recherche de moyens pour améliorer leur état de santé et leur qualité de vie.

Nous sommes bombardés de vraies et fausses informations concernant la perte de poids, la perte de cheveux, l'énergie physique, la lutte contre le cancer, l'arthrite, les migraines et une myriade d'autres problèmes de santé.

Les antibiotiques autrefois considérées comme les armes les plus puissantes de la médecine conventionnelle, sont maintenant relégués au second plan. Pourquoi? Parce que l'utilisation exagérée d'antibiotiques, entraîne une résistance des microbes à ces médicaments. De nombreux experts dans le domaine de la santé prédisent que même les infections bactériennes les plus banales peuvent devenir un problème de santé grave.

En réponse à cette menace apparente, est né le "phytomédicament" .Pour combattre les infections microbiennes de manière naturelle et efficace (Castiglione c, 1993).

Qu'est-ce que le "phytomédicament"? Désigne la médecine fondée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels. Les fruits d'olivier, dont l'extrait a été utilisé pendant des siècles par de nombreuses cultures à des fins médicales. Largement étudié par le monde scientifique moderne, l'extrait des fruits d'olivier a prouvé son efficacité contre les microbes : bactéries, virus, champignons et parasites, mais a aussi une variété d'autre bienfaits sur la santé.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de l'huile d'olive sur l'action des antibiotiques sur des souches bactériennes.

I-Généralités sur les antibiotiques

I-1- Définition des antibiotiques

Un antibiotique est une substance chimique naturelle (produites par une bactérie, un champignon) ou synthétique, capable d'inhiber spécifiquement la croissance ou détruire des micro-organismes par un mécanisme particulier en agissant sur les mécanismes vitaux du germe. Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni être modifier, se fixe sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (Mergeay et *al.*, 1985).

I-2- Classification des antibiotiques

Cette classification repose sur des propriétés physico-chimiques communes à chacune de ces molécules. A l'intérieur de chaque famille, les propriétés pharmacologiques et antibiotiques peuvent varier d'un dérivé à l'autre (Suzuki et *al.*, 2008).

I-2-1- Critères de Classification

-Origine : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)

-Mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques

-Spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)

-Nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse.

On a 5 grandes familles des antibiotiques :

a) β - lactamines : Les bêtalactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en antibiothérapie. Elle représente une vaste variété d'antibiotiques qui possèdent comme structure de base le cycle bêta-lactame (Mergeay et *al.*, 1985).

-les pénicillines du groupe G.

- les pénicillines semi-synthétiques du groupe A (ampilline et dérivés).

-les pénicillines du groupe M.

-les céphalosporines.

b) Glycopeptides : Les antibiotiques importants que renferme cette famille sont la Vancomycine et la Teicoplanine. Ces deux molécules n'agissent que sur les bactéries à Gram

I-Généralités sur les antibiotiques

positif en inhibant la synthèse du peptidoglycane et donc la croissance des bactéries (Mergeay et al., 1985).

c) Aminosides : Leur structure est à base de sucres aminés, les principales molécules sont : Streptomycine, Gentamicine, Netilmicine, Tobramycine, Amikacine. C'est un antibiotique bactéricide. Ils se fixent de façon irréversible sur le ribosome des bactéries et inhibent ainsi la traduction en provoquant des erreurs de lecture de l'ARN messager (Zhuang et al., 2003).

d) Macrolides : Les antibiotiques macrolides sont caractérisés par le cycle lactone relié aux molécules de sucres. Il y a une grande variété d'antibiotiques macrolides, le plus connu est l'érythromycine. C'est un inhibiteur de synthèse de protéine au niveau de la sous-unité 50S du ribosome (bactériostatiques) (Zhuang et al., 2003).

e) Quinolones : Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides à large spectre, on distingue les antibiotiques de :

- 1ère génération : Acide nalidixique ;
- 2ème génération : fluoroquinolones : Norfloxacin, Ofloxacin, Ciprofloxacine
- 3ème génération : Lévofloxacine, Moxifloxacine

Ils sont très efficaces contre les bactéries entériques comme *E. coli* et d'autres bactéries pathogènes Gram négatives, ainsi que les Gram positives telles que *Staphylococcus aureus*. Ils sont utilisés dans le traitement des infections du système urinaire (Mergeay et al., 1985).

f) Les sulfamides : sont des composés soufrés, essentiellement des agents bactériostatiques

- Un large spectre d'action antibactérienne
- Action s'annule en présence d'un excès de PAB l'acide (para-amino-benzène-) ou de certains métabolites terminaux dont la thymidine (Zhuang et al., 2003).

Les antibiotiques comprennent aussi :

- les nitrofuranes.
- les nitronidazoles.
- les rifamines.
- les polypeptidiques.
- les substances diverses.

I-3- Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques se différencient des antiseptiques par leur mécanismes d'action, ils agissent à un niveau précis des structures bactériennes, dénommé site d'action. L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactéries d'autre part. (Fig.1) (Taghavi et *al.*, 1997).

L'antibiotique exercera son action qui pourra être de deux types de modalité:

- Bactériostatique : ils empêchent le développement des bactéries.
- Bactéricide : ils tuent les bactéries en agissant sur la paroi, l'ADN, la membrane, la synthèse de protéine.

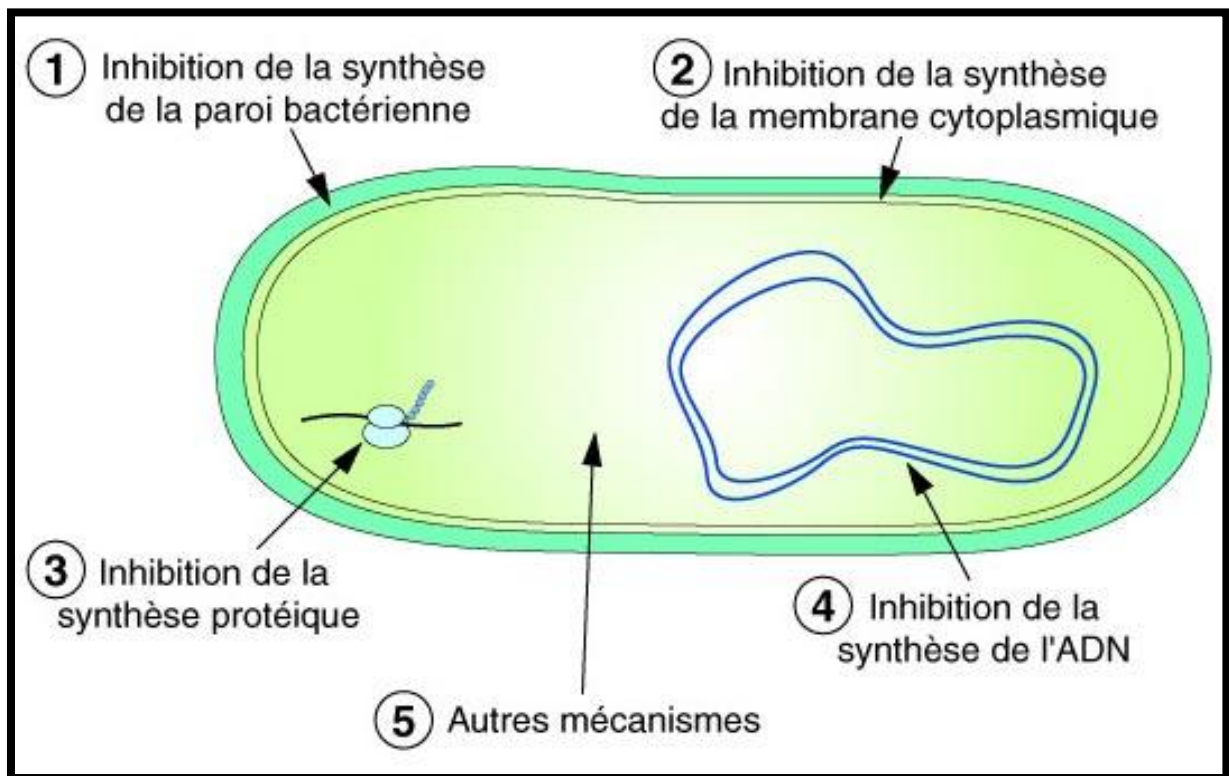


Figure 1: Mode d'action des antibiotiques (Taghavi et *al.*, 1997).

I-Généralités sur les antibiotiques

I-3-1- Action sur la paroi des bactéries

L'action des antibiotiques permet d'empêcher la synthèse de la transpeptidase et donc celle du peptidoglycane. Après avoir inhibé la synthèse du peptidoglycane, la paroi ne peut plus être formée et la bactérie se désorganise. L'eau y entre par osmose. Cela permet d'empêcher la bactérie de se diviser. Les β -lactamines (famille à laquelle appartient la pénicilline) agissent suivant ce mode d'action (Nies et *al.*, 1999).

Exemple, interférences avec la biosynthèse de la paroi, fixation sur des cibles :

β -lactamines se fixe sur PLP (protéines fixant la pénicilline)

Vancomycine se fixe sur dipeptide terminal D-alanyl-D-alanine

Fosfomycine se fixe sur phosphoénol pyruvate synthétase

Cyclosérine se fixe sur D-alanine-D-alanine synthétase

I-3-2- Action sur la membrane des cellules bactériennes

Certains antibiotiques agissent grâce à des propriétés dites surfactant : (molécule amphiphile qui diminue la tension de surface entre deux phases). Cette propriété permet aux antibiotiques de s'insérer entre les phospholipides externes. Cela entraîne une augmentation anormale de la perméabilité membranaire, ce qui entraîne une fuite de substances intracellulaires à travers la membrane plasmique et la mort des bactéries (Nies et *al.*, 1999).

Les poly myxines (lipopeptides cycliques) agissent suivant ce mode d'action.

Exemple : fixation sur la membrane des cellules bactériennes:

Polypeptides cycliques se fixe sur membranes externe/interne

Fixé sur Phospholipides

I-3-3- Action sur l'ADN

L'antibiotique agit en se liant au complexe ADN-ADN gyrase bactérienne ce qui a pour effet d'inhiber l'action de la gyrase. Cet enzyme rajoute des super tours négatifs à l'ADN, préalable indispensable à l'ouverture de la double hélice. Cela inhibe la réplication de l'ADN, indispensable à la formation de nouvelles bactéries, ainsi que la transcription. Les fluoroquinolones agissent suivant ce mode d'action (énoxacine) (Taghavi et *al.*, 1997).

I-3-4- Action sur la synthèse protéique

L'antibiotique interfère avec la synthèse protéique bactérienne en agissant sur les ribosomes. En effet, les ribosomes bactériens (constitués de deux sous-unité 30S et 50S formant un

I-Généralités sur les antibiotiques

ribosome 70S) sont différents des ribosomes eucaryotes (constitués de deux sous-unités 40S et 60S formant un ribosome 80S) offrant la possibilité d'avoir des substances dont l'action est très spécifique. Les tétracyclines (auréomycine) et les macrolides (érythromycine) agissent suivant ce mode d'action. Les macrolides agissent au niveau de la sous-unité 50S, les tétracyclines agissent sur la sous-unité 30S (Greenblat et *al.*, 2007).

I-3-5- Action par inhibition compétitive

L'antibiotique agissant par inhibition compétitive va s'insérer dans la bactérie, et les différences de structures entre ces deux derniers vont entraîner un blocage des voies métaboliques de la bactérie. Des antibiotiques (comme, les sulfamides) agissent de la sorte, en entrant en compétition avec l'acide PAB (para-aminobenzoïque), qui est essentiel à la synthèse des voies métaboliques (Azabou et *al.*, 2007).

I-4- La Résistance aux ATB

La résistance aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que l'apparition des antibiotiques. Aujourd'hui, Souvent d'origine synthétique et produits par l'homme, les antibiotiques sont au départ des substances naturelles Générées par des champignons mais aussi par certaines bactéries pour se "défendre" contre les autres bactéries. Il s'agit là de résistance naturelle et acquises (Nies et *al.*, 1999).

I-4-1- Résistance naturelle

Ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) (Azabou et *al.*, 2007).

Exemple de résistances naturelles :

Klebsiella spp : Produit naturellement des bêta-lactamases. Cette enzyme est alors présente dans l'espace périplasmatique de la bactérie et conduit à la destruction d'antibiotiques comme les pénicillines A, avant que ceux-ci ne puissent atteindre leur cible bactérienne.

I-4-2- Résistance acquise

Il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée.

-La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien.

- La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce.

La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était initialement faible. La généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes (Asker et *al.*, 2007).

Les mécanismes génétiques de la résistance acquise

Le potentiel génétique d'une bactérie est constitué du chromosome d'un ou de plusieurs génophores facultatifs et extra-chromosomiques (les plasmides).

Des gènes sont également portés par des éléments génétiques transposables et par des intégrons. Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra chromosomique (Asker et *al.*, 2007).

Résistance chromosomique

Elle résulte d'une **mutation** spontanée de gènes préexistants. C'est un phénomène rare (fréquence = 10^{-5} à 10^{-9}), mais leur taux est stable

Résistance extra-chromosomique (plasmides)

Deux faits expliquent l'importance de la résistance extra-plasmidique :

1/ la résistance plasmidique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie. Les bactéries porteuses de plasmides sont normales alors que les bactéries résistantes par mutation sont souvent fragilisées (Asker et *al.*, 2007).

2/ de nombreux plasmides de résistance sont conjugatifs ou mobilisables ce qui permet un transfert horizontal ; ces transferts sont à l'origine d'une dissémination très importante de la résistance au sein des populations bactériennes ce qui fait qualifier la résistance plasmidique

I-Généralités sur les antibiotiques

de "contagieuse ou d'infectieuse". Les plasmides de résistance sont susceptibles d'évoluer par acquisition ou pertes successives de déterminants de résistance portés par des éléments génétiques transposables (Asker et *al.*, 2007).

Les niveaux de résistance

La souche résistante peut croître en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce (Mergeay et *al.*, 1985).

Il faut donc tenir compte d'un effet dose :

- **bas niveau de résistance** si: croissance stoppée par de faibles concentrations d'antibiotique
- **haut niveau de résistance** si: fortes concentrations sont nécessaires

I-5- Moyens de résistance

I-5-1- Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Greenblat et *al.*, 2007).

I-5-2- Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la cible. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram positives, et pour les résistances aux

I-Généralités sur les antibiotiques

quinolones chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les diaminopyrimidines (triméthoprime) et les bêta-lactames dont les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) ainsi qu'à toutes les bêta-lactames d'usage vétérinaire sont un exemple remarquable par la synthèse d'une nouvelle PBP (Penicillin Binding Protein) possédant une affinité moindre pour la méthicilline. (Fig.2) (Greenblat et al., 2007).

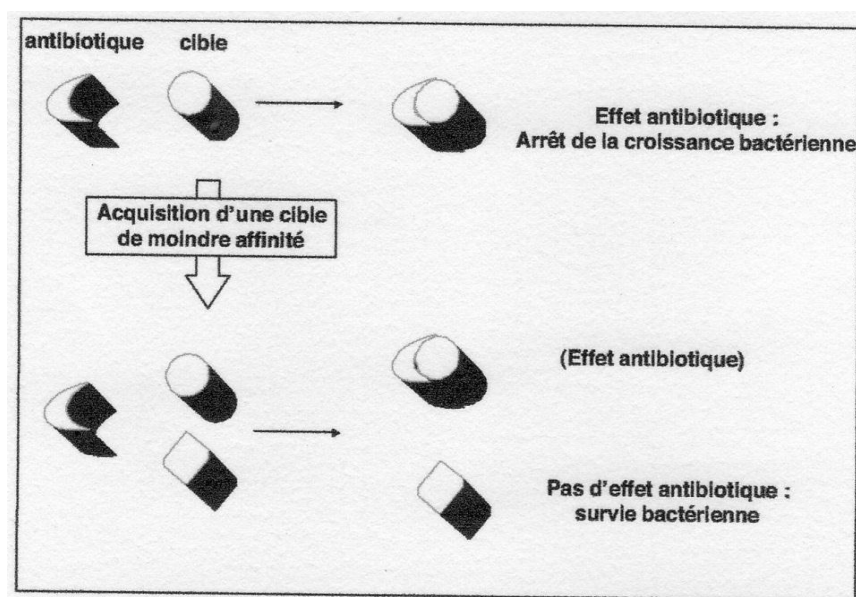


Figure 2 : Modification de la cible de l'antibiotique (Greenblat et al., 2007).

I-5-3-Pompes (transporteurs) à efflux

À travers des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (Greenblat et al., 2007).

I-5-4-Perméabilité

Réduite contrairement aux bactéries Gram positives, dont la structure enveloppante est assez simple, composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycanes que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries Gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable (Nies et *al.*, 1999).

I-5-5-Protection de la cible de l'antibiotique

Est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. Ainsi, on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome. Depuis quelques années, des souches présentant des résistances sub-cliniques dites à bas niveau aux fluoroquinolones ont été observées. Ces résistances sont notamment dues à la présence de gènes plasmidiques *qnr* (pour quinolone resistance) dont 5 groupes existent. Ce mécanisme a été rapporté parmi différentes bactéries Gram négatives à travers le monde, et des analogues de ces gènes ont également été décrits chez des bactéries Gram positives. Les protéines *qnr* en se fixant sur les topoisomérases, cibles des fluoroquinolones, réduisent l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles (Nies et *al.*, 1999).

I-5-6- Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamides et dutriméthoprine ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *S. aureus*, et à la tobramycine chez *E. coli* (Greenblat et *al.*, 2007).

II-1-Définition

L'huile d'olive fait partie de la culture méditerranéenne. L'huile est constituée pour l'essentiel d'acides gras liés au glycérol (>95%), elle contient, par ailleurs, un grand nombre d'autres composants, présents en faibles quantités. Ces composants dits « mineurs » n'en sont pas moins très importants : certains ont des effets bénéfiques sur la santé humaine, d'autres renforcent la stabilité de l'huile, d'autres encore sont responsables de son parfum délicat et unique. Le principal atout nutritionnel de l'huile d'olive réside cependant dans sa richesse en composés phénoliques ayant des propriétés antioxydantes (Catherine Breton et *al.*, 2012).

II-2-Classification des huiles d'olive

a- huile d'olive vierge

Huile obtenue à partir du fruit uniquement, par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques, dans des conditions, notamment thermiques, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et qui n'a subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration, à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de ré-estérification, et de tout mélange avec des huiles d'autre nature.

Ces huiles d'olives vierges font l'objet d'un classement et de dénominations suivantes :

- Huile d'olive vierge extra

Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 1 g pour 100 g et dont la note de dégustation est supérieure ou égale à 6,5. Les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.

- Huile d'olive vierge

Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 2 g pour 100 g et dont la note de dégustation est supérieure ou égale à 5,5 et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.

- Huile d'olive vierge courante

Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 3,3 g pour 100 g et dont la note de dégustation est supérieure ou égale à 3,5. Les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.

- Huile d'olive vierge lampante

Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est supérieure à 3,3 g pour 100 g et dont la note de dégustation est inférieure à 3,5. Les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.

II-Généralités sur l'huile d'olive

b-Huile d'olive raffinée

Huile obtenue par le raffinage d'huiles d'olive vierges, dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, ne peut être supérieure à 0,5 g pour 100 g et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.

c-Huile d'olive

Huile constituée par un coupage d'huiles d'olive raffinées et d'huiles d'olive vierges autres que lampantes, dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, ne peut être supérieure à 1,5 g pour 100 g et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.

d-Huile de grignons d'olive brute

Huile obtenue par traitement au solvant des grignons d'olive, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de réestrication et de tout mélange avec des huiles d'autre nature, et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.

e-Huile de grignons d'olive raffinée

Huile obtenue par le raffinage d'huile de grignons d'olive brute, dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, ne peut être supérieure à 0,5 g pour 100 g et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.

f-Huile de grignons d'olive

Huile constituée par un coupage d'huiles de grignons raffinées et d'huiles d'olive vierges autres que lampantes, dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, ne peut être supérieure à 1,5 g pour 100 g et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie (Oliveras-Lopez M J et *al.*, 2007).

II-3-La composition chimique de l'huile d'olive

Dépend largement de la variété du fruit, des conditions agronomiques, du degré de maturité, des procédés d'extraction et des conditions de stockage. Les constituants de l'huile d'olive sont souvent classés en deux catégories : **la fraction saponifiable** et **la fraction insaponifiable**. (Oliveras-Lopez M J et *al.*, 2007)

II-Généralités sur l'huile d'olive

II-3-1- La fraction saponifiable

Est constituée d'acides gras et de leurs dérivés (acylglycérols, phosphatides). Elle représente environ 99% de l'huile et lui confère la plupart de ses caractéristiques physiques, chimiques et métaboliques. (Ryan et *al.*, 1998). Elle est composée essentiellement de

a) Les triglycérides : sont les composants majoritaires de l'huile d'olive (95,4 %), les diglycérides ne représentent qu'environ 1-2,8 %. Les principaux triglycérides de l'huile d'olive sont : la trioléine « OOO » (40 à 60 %), la dioléopalmitine « POO » (10 à 20 %), la dioléolinoléine « OOL » (10 à 20 %), la palmitooléolinoléine « POL » (5 à 7 %) et la dioléostéarine « SOO » (3 à 7 %) (Boskou et *al.*, 2006).

b) Les acides gras : La composition en acides gras totaux est un paramètre de qualité et d'authenticité des huiles d'olives. Cette composition est très variable et dépend de la variété, du climat et de la région de production, de l'année et la période de récolte ainsi que des techniques d'extraction et des conditions de stockage. (Zarrouk et *al.*, 2008). Comparée à d'autres huiles végétales, l'huile d'olive est caractérisée par sa richesse en acides gras monoinsaturés et présente de faibles teneurs en acides gras saturés. De toutes les huiles végétales, l'huile d'olive est celle qui présente le plus fort rapport acides gras monoinsaturés/acides gras polyinsaturés. Cette particularité confère à l'huile d'olive une plus grande stabilité à l'auto-oxydation (Perrin, 1992; Baccouri et *al.*, 2008).

II-3-2-La fraction insaponifiable

Cette fraction, dénommée constituants mineurs, représente environ 2 % de la composition totale de l'huile d'olive et comptent plus de 230 composés différents (Baccouri et *al.*, 2008).

a- Les stérols

Représentent les constituants majeurs de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive (20%) et sont présents sous forme libre et estérifiée avec les acides gras (Phillips et *al.*, 2002). Les principaux stérols de l'huile d'olive sont le β -sitostérol (75% à 90%), le Δ -5-avenastérol et le campestérol. D'autres stérols sont également présents à l'état de traces, à savoir : le cholestérol, le Δ -7-stigmastérol, le Δ -7-avenastérol et le campestanol (Boskou et *al.*, 2006). Les teneurs en stérols de l'huile d'olive varient de 1000 à 3000 mg/Kg (Ryan et *al.*, 1999). Ces teneurs varient en fonction de la variété, de la maturité des olives et de l'origine géographique des olives (Baccouri et *al.*, 2008). Les stérols de l'huile d'olive, en particulier,

II-Généralités sur l'huile d'olive

le β -sitostérol et le Δ -5-avenastérol, sont doués de propriétés antioxydantes. Plusieurs travaux ont signalé que la composition de la fraction stérolique constitue un paramètre important dans la détection d'adultérations des huiles (Pardo et *al.*, 2007).

b- Les composés aromatiques

Plus de 100 composés contribuent à l'arôme délicat et unique de l'huile d'olive. Ces composés proviennent des fruits et ils sont incorporés à l'huile durant le broyage et le malaxage des olives (Salas et *al.*, 2000). Ils sont constitués d'un mélange de composés volatils tels que les hydrocarbures, les aldéhydes, les alcools, les cétones, les furanes et les esters, qui sont des molécules de faible poids moléculaire (Baccouri et *al.*, 2008). D'autres composés volatils se forment durant le métabolisme des acides gras et des acides aminés (désamination) aboutissant à la production des acides acétique et propionique, d'aldéhydes, d'alcools et d'esters. La teneur en composés volatils dépend étroitement de l'activité des enzymes de la voie de la lipoxygénase et varie selon le cultivar, le degré de maturité des olives, le stockage des olives, l'opération de lavage, le temps et la température du malaxage, les conditions climatiques et l'état sanitaire des olives. (Allalout et *al.*, 2009).

c- Les tocophérols

Se présentent sous quatre formes (α , β , γ et δ) qui se différencient entre elles par le nombre et la position des groupements méthyles fixés sur le noyau aromatique (Soulier et Farines, 1992). Les tocophérols de l'huile d'olive se trouvent libres ou estérifiés, l' α tocophérol, doté de la plus forte activité antioxydante, représentent plus de 95 % des tocophérols totaux (Ryan et *al.*, 1999). Ils contribuent à la stabilité oxydative et aux qualités nutritionnelles de l'huile d'olive (Ryan et *al.*, 1999). En effet, ils exercent une activité antioxydante par rupture de la chaîne radicalaire lors des étapes de propagation de l'oxydation lipidique, comme ils peuvent prévenir l'action de l'oxygène singulet, initiateur de la peroxydation des lipides. Les teneurs en tocophérols, généralement rapportées pour une huile d'olive d'une bonne qualité, varient de 100 à 300 mg/Kg. Ces teneurs varient en fonction de plusieurs facteurs dont la variété de l'olive et sa maturité ainsi que les conditions et la durée de la conservation de l'huile (Allalout et *al.*, 2009).

II-Généralités sur l'huile d'olive

d- Les pigments

La couleur de l'huile d'olive est un paramètre de qualité qui dépend de sa composition en pigments. Ils sont responsables de la couleur verdâtre à jaune de l'huile d'olive. (Cichelli et Pertesana, 2004). Deux groupes de pigments sont identifiés dans l'huile d'olive, ceux qui sont présents naturellement dans le fruit d'olive : chlorophylle a et b, lutéine, β -carotène, anthéroxanthine, violaxanthine et neoxantine et ceux qui se forment durant le processus d'extraction de l'huile d'olive : phéophytine a et b, lutéoxanthine, auroxanthine et mutatoxanthine (Tsimidou M et *al*, 1992).

e- Les hydrocarbures

Deux hydrocarbures sont présents en quantité considérable dans l'huile d'olive : le β -carotène et le squalène. Ce dernier est un terpène insaturé (isoprénoïde) et constitue le composé majoritaire des hydrocarbures (plus de 90%). Sa teneur varie de 200 à 7500 mg/Kg d'huile. (Perrin, 1992). Le squalène, précurseur de synthèses des stérols, est caractérisé par une stabilité élevée sous des conditions d'autooxydation et contribue ainsi à la stabilité de l'huile après exposition à la lumière (Tsimidou M et *al*, 1992).

f- Les composés phénoliques

L'huile d'olive renferme plus de 30 composés phénoliques. Ce sont des substances naturelles qui confèrent à l'huile d'olive des propriétés organoleptiques et contribuent à la bonne stabilité de l'huile à l'auto-oxydation. Les composés phénoliques de l'huile d'olive appartiennent à diverses familles : acides et alcools phénoliques, sécoïridoïdes, lignanes, flavonoïdes, etc. Ils sont soit liés, etherfiés ou estérifiés avec les glycosides soit à l'état libre suite à des réactions d'oxydation et d'hydrolyse au sein de ces composés au cours de la maturation du fruit, ou lors du processus de l'extraction. (Ollivier et *al.*, 2004).

II-4- Procédés de fabrication de l'huile d'olive

Deux procédés sont généralement utilisés: un procédé discontinu et un procédé continu.

II-4-1- Procédé discontinu ou système à presse : le système le plus répandu

Le broyage est réalisé par des meules en pierre de granit, qui tournent dans un bac dont le sol est également en pierre. Les meules utilisées pour le broyage sont ensuite légèrement décentrées par rapport à l'axe de rotation. Elles dérapent donc légèrement sur le socle

II-Généralités sur l'huile d'olive

lorsqu'elles tournent ce qui permet de malaxer la pâte. La pâte est obtenue en 30 minutes environ. La pâte malaxée est placée en couche mince de 2 cm d'épaisseur sur des disques en fibre de nylon appelés scourtins. Ceux-ci sont empilés les uns sur les autres autour d'un pivot central monté sur un petit chariot. L'ensemble est placé sur un piston de presse hydraulique qui permet de faire subir à la pâte une pression de 400 kg/cm. La phase liquide s'écoule dans un bac de réception; le grignon reste accroché aux scourtins. Cette opération dure 45 minutes. Ensuite, chaque scourtin est débarrassé de son grignon en le tapant comme un tapis. Enfin, des centrifugeuses permettent de séparer l'huile d'olive des margines. (LOUSSERT R., BROUSSE G., 1978).

II-4-2- Procédé continu ou système à centrifugation

Le broyage est réalisé par des broyeurs mécaniques agissant comme des «presse purée ». Ces broyeurs peuvent travailler en continu, la pâte étant obtenue presque instantanément. Ensuite, la pâte est amenée dans un bac en inox, dans lequel tourne une spirale ou une vis sans fin, également en inox. La pâte malaxée est injectée par une pompe dans une centrifugeuse dont l'axe est horizontal. Cet appareil est appelé décanteur horizontal. La dernière étape est identique au procédé précédent: des centrifugeuses permettent de séparer l'huile d'olive des margines. (LOUSSERT R., BROUSSE G., 1978).

II-5- Caractéristiques de l'huile d'olive

II-5-1- Caractères Organoleptiques

C'est un liquide limpide, transparent, jaune ou jaune vert, d'odeur caractéristique, pratiquement insoluble dans l'alcool, miscible à l'éther et à l'éther de pétrole. (Alais.G., Linden.G., 1997).

II-5-2- Caractères Physico-chimiques : Il existe plusieurs indices

a- Indice d'acidité

C'est un indicateur permettant d'évaluer l'altération de la matière grasse, consécutive à de mauvais traitements ou à une mauvaise conservation. Il permet de déterminer la teneur en acides gras libres résultant de l'hydrolyse des triglycérides. Il est exprimé en % d'acide oléique, et est mesuré par la quantité de potasse nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme de corps gras. Le critère conduit à la classification suivante:

II-Généralités sur l'huile d'olive

Tableau 1: Pourcentage d'acidité des différents types d'huile

Catégories d'huile	Pourcentage d'acidité %
Vierge Extra	<1
Vierge	<2
Vierge lampante	>2
Raffinée	<3
Grignons d'olive	<1.5

b- Indice de peroxyde

L'altération chimique des corps gras provoquée par l'oxygène de l'air débute par la formation d'un peroxyde. La détermination de cet indice est basée sur l'oxydation des iodures en iode par l'oxygène actif du peroxyde. Les résultats sont exprimés en milliéquivalents d'oxygène actif par kg de corps gras. La norme internationale recommandée pour les huiles d'olive, fixe le minimum de cet indice à 20mEq d'oxygène actif par kg d'huile.

La détermination de cet indice est insuffisante pour avoir une image exacte de l'état d'oxydation d'une huile, car un chauffage à 130°C détruit les peroxydes pour donner naissance à des aldéhydes, et des cétones, responsables des corps rances.

c- Spectre en lumière ultra-violette

La spectrophotométrie est utilisée pour déceler les composés oxydés anormaux dans une huile d'olive vierge. Cette huile accuse un pic d'absorption à 203-208 nanomètre et est transparente au-delà de 210 nm. Les composés provenant de l'oxydation de l'huile présentent des absorptions pour les radiations de longueur d'onde suivantes:

- 232 nm pour les hydroperoxydes
- 270 nm pour les composés carbonylés
- 260, 268, 280, nm pour les triènes conjugués

Aussi l'étude de la bande 230 à 300 nm est particulièrement intéressante pour révéler l'état d'oxydation d'huile. En pratique, l'extinction spécifique dans l'UV est calculée à partir d'une solution à 1% sous une épaisseur de 1 cm, à l'aide d'une longueur d'onde de 232 nm et 270 nm. La norme commerciale du COI recommande : huile d'olive vierge extra K270 (Alais.G., Linden.G., 1997).

II-6- Les bienfaits d'huile d'olive sur la santé

- Inhibition efficace et prévention des infections causées par les microbes, virus, bactéries, champignons, parasites, levures et moisissures.
- Augmentation de l'élasticité des artères, amélioration de la circulation sanguine avec réduction de l'hypertension artérielle.
- Soulagement de l'inflammation due à l'arthrite, notamment la polyarthrite rhumatoïde.
- Amélioration des symptômes du syndrome de fatigue chronique et des troubles apparentés.
- Aptitude à lutter contre la production de radicaux libres.
- Prévention et traitement de nombreux types d'infections virales telles que l'herpès, de nombreux virus de la grippe et du rhume, le virus d'Epstein-Barr, le VIH, le cytomegalovirus et autres.
- Augmentation de la production d'énergie dans le corps.
- Soulagement de maux de dents, des hémorroïdes, du pied d'athlète, des mycoses et d'autres conditions (Alais.G., Linden.G., 1997).

III- Matériel et méthodes

III-1-Matériel

- Notre étude a été réalisée sur 2 souches bactériennes: bactéries a Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922 et bactéries a Gram positif : *Staphylococcus aureus* MRSA 43300, *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Ces souches ont été obtenues du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Iben Zohr, Guelma.

-Milieux de culture utilisé est le bouillon nutritif pour le repiquage et la culture des souches bactériennes et la gélose de Muller Hinton pour les tests d'antibiogramme.

-pour l'huile d'olive on a utilisé de notre région.

-Les antibiotiques : La résistance de nos souches de bactéries a été testée vis-à-vis de 10 antibiotiques, par diffusion sur milieux solide. Les antibiotique testes sont :

- Vancomycine (VA) 30µg
- Gentamicine (GN) 120µg
- Amoxicilline + Ac. 30µg
- Céfotaxime (CTX) 30 µg
- Co_trimoxazole 25µg
- Cefixime 05µg
- Amikacine 30µg
- Cefazoline 30µg
- Mitroxaline 30µg
- Pénicilline (G) 10µg

III- Matériel et méthodes

III-2-Méthodes de travail

III-2-1-préparation de l'inoculum

Afin de tester nos souches bactérienne alors qu'elles sont en phase exponentielle de leur croissance, à partir d'une culture de nuit de la souche test, nous ensemençons une suspension dans un milieu frais que nous incubant sous agitation pendant environ deux heure.

A partir d'une culture des bactéries à tester, quelques colonies sont prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur et sont déchargées dans un tube contenant le bouillon nutritif, puis bien agiter le tube pour une bonne répartition de la souche dans le milieu.

III-2-2- l'antibiogramme

La technique utilisée est celle de la diffusion des antibiotiques en milieu solide (méthode des disques), selon le communiqué du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2008).

En pratique, on réalise à partir de la suspension préalablement préparée un ensemencement en tapis sur le milieu Mueller-Hinton. L'épaisseur de la gélose doit être environ 4mm. Les boites doivent être séchées 20minutes à 37°C avant le dépôt des disques.

On dipose ensuite les disques d'antibiotiques et on place les boites à l'étuve à 37°C. Au bout de 24 h, on lit les différents diamètres d'inhibition.

III- Matériel et méthodes

III-2-3- test de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive

-Par la méthode de diffusion par disques

La méthode suivie pour ce test est la même suivie pour le test précédent (antibiogramme) en utilisant des disques imprégnés au préalable dans l'huile d'olive au lieu des disques d'antibiotique.

III-2-4- test de l'activité antibactérienne à l'éthanol

Afin de bien vérifier l'effet de l'huile d'olive, et suite aux résultats obtenus avec l'huile d'olive brut, nous avons jugé utile de procéder à des dilutions de l'huile d'olive dans l'éthanol.

Cependant, il est nécessaire de tester d'abord l'éthanol contre nos souches bactériennes.

Ensuite nous avons testés l'huile d'olive diluée aux $1/2^{\text{ème}}$, $1/10^{\text{ème}}$ et $1/100^{\text{ème}}$ dans l'éthanol. Incuber 24 heures à 37 °C.

III-2-5 La combinaison entre l'huile d'olive pure et les 3 antibiotiques

Dans ce test nous avons sélectionné 3 antibiotiques contre lesquels les souches bactériennes sont fortement sensibles (gentamycine, vancomycine et cefotaxime).

Le test est réalisé toujours selon la méthode de diffusion, sauf que chaque disque d'antibiotique testé est préalablement imprégné dans l'huile d'olive avant de le déposer sur la gélose (Shroeder et Messing, 1949).

III-2-6-test sur milieu liquide

Nous avons utilisé cette méthode par dilution en milieu liquide (bouillon nutritif), elle consiste à inoculer, une gamme de concentration croissante de l'antimicrobien à tester (l'huile d'olive (HO), la gentamycine (CN) et la combinaison entre les deux) dans des tubes contenant le bouillon nutritif et 100µl de bactéries test actives/tube.

Les bactéries actives sont obtenus à partir d'une culture de nuit suivie par une nouvelle culture sur milieu frais pendant environ deux heures pour atteindre la phase exponentielle de croissance.

On prépare deux séries l'une pour la gentamycine et l'autre pour l'huile d'olive.

Pour le dénombrement de bactéries on calcule la densité optique (DO) de chaque culture à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda = 600$ nm, ensuite on applique pour le dénombrement des bactéries la formule : DO=0.6 correspond à 2.5×10^8 bactéries/ml (Kaplan.J.C et Delpech.M., 1990).

IV-1 résultats de l'Antibiogramme

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques, le tableau 2 et la figure 3 montre les valeurs des diamètres en mm des zones d'inhibitions obtenues après l'action des antibiotiques sur les différentes souches étudiées.

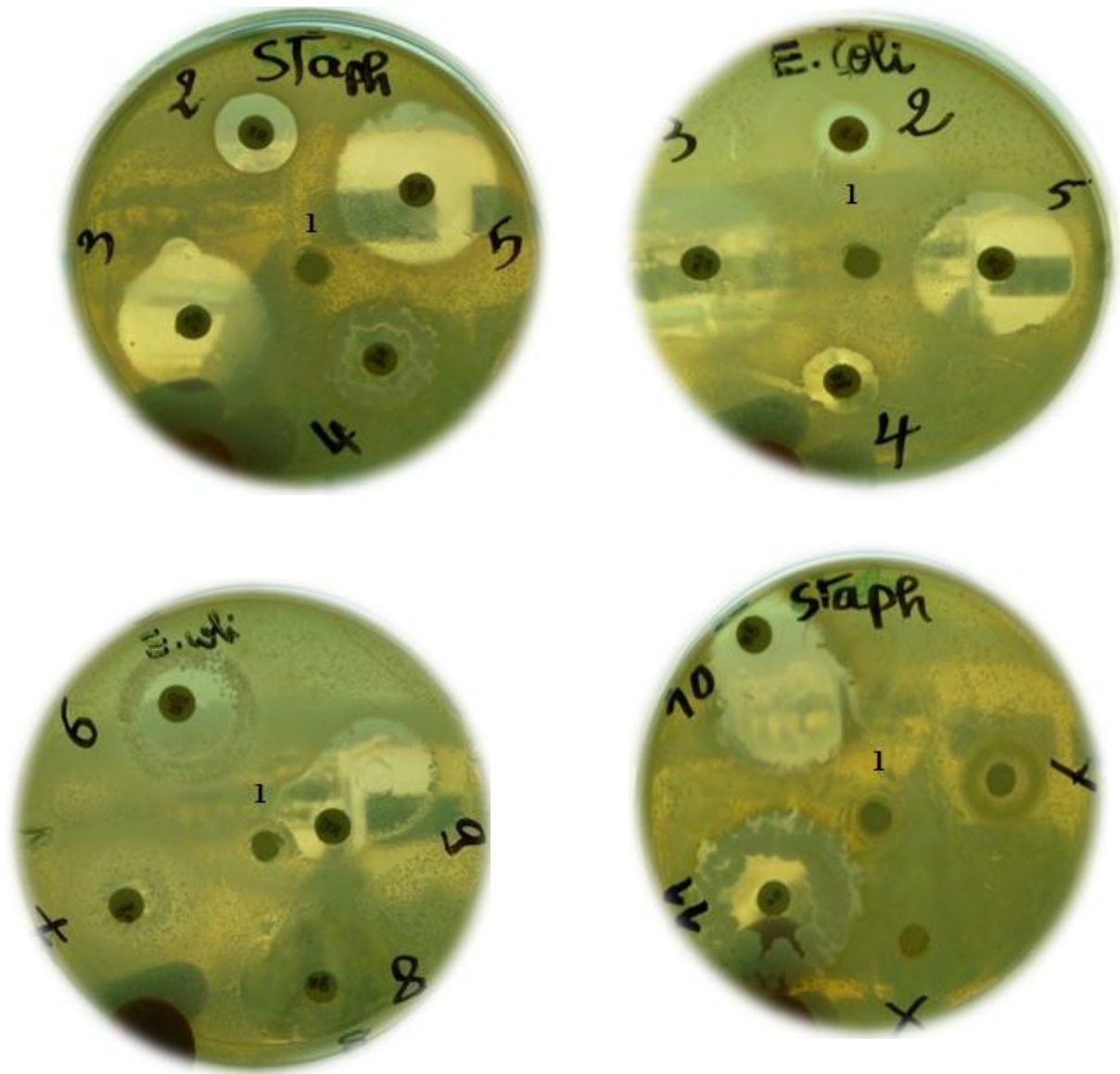


Figure 3 : Antibiogramme des souches étudiées en présence des différents antibiotiques

1 : huile d'olive 2 : vancomycine 3 : Gentamycine 4 : Augmentin 5 : Cefotaxime 6 : Co_trimoxazole 7 : Cefixime 8 : Amikacine 9 : Cefazoline 10 : Mitroxaline 11 : Pénicilline (G) X : éthanol Y : Tween 80

IV-Résultats et discussion

Tableau 2: résultats de l'antibiogramme des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques testé

Souches ATB	Zones d'inhibition en mm	
	<i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922
Vancomycine (VA)	14	0
Gentamicine (GN)	28	26
Amoxicilline + Ac.	0	12
Céfotaxime (CTX)	0	32
Co_trimoxazole	0	16
Cefixime	0	0
Amikacine	0	20
Cefazoline	0	0
Mitroxaline	0	0
Pénicilline (G)	0	0

(0 : Pas de zone d'inhibition)

Les résultats obtenus montrent que les 2 souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC25922 sont sensibles à la Gentamicine, alors que *Escherichia coli* montre une grande sensibilité à la Céfotaxime, et *Staphylococcus aureus* est sensible à la Vancomycine, d'où le choix de ces trois antibiotiques dans le test de la combinaison.

IV-1-2-Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive brut

Ce test vise d'étude de l'action de l'huile d'olive sur les deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922, ce teste a montré que l'huile d'olive brut n'a aucun effet sur les deux souches tests (Fig. 4).

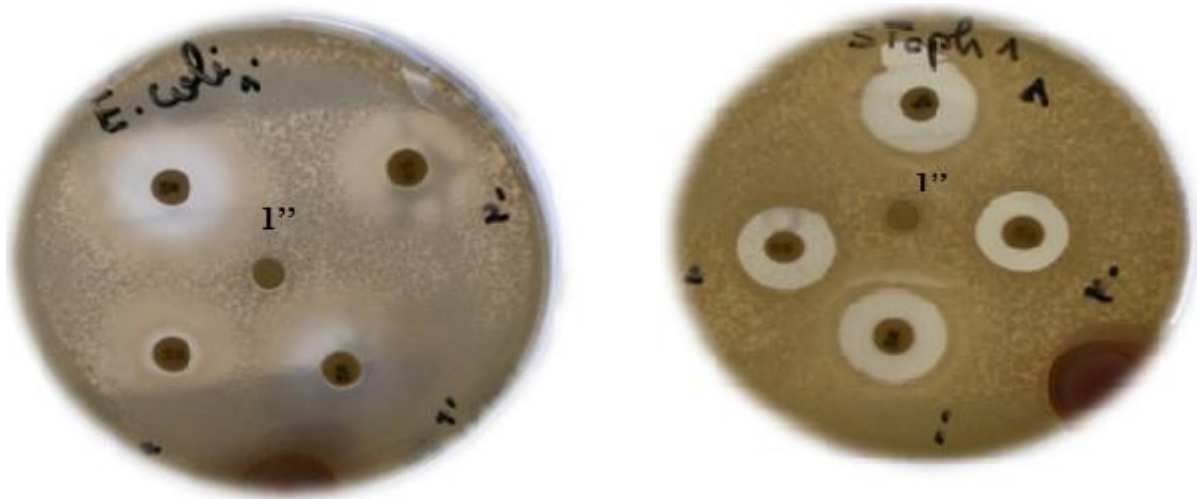


Figure 4 : résultat de l'activité de l'huile d'olive brut sur les germes étudiés

1'' : disque de l'huile d'olive pur

IV-1-3 Résultat de l'activité antibactérienne de l'éthanol

Comme l'huile d'olive brut n'a montré aucun effet sur l'action des trois ATB, nous l'avons testé après dilution dans l'éthanol pour évaluer son action. Pour cela nous avons vérifié d'abord l'effet de l'éthanol sur les souches tests. (Fig. 5)

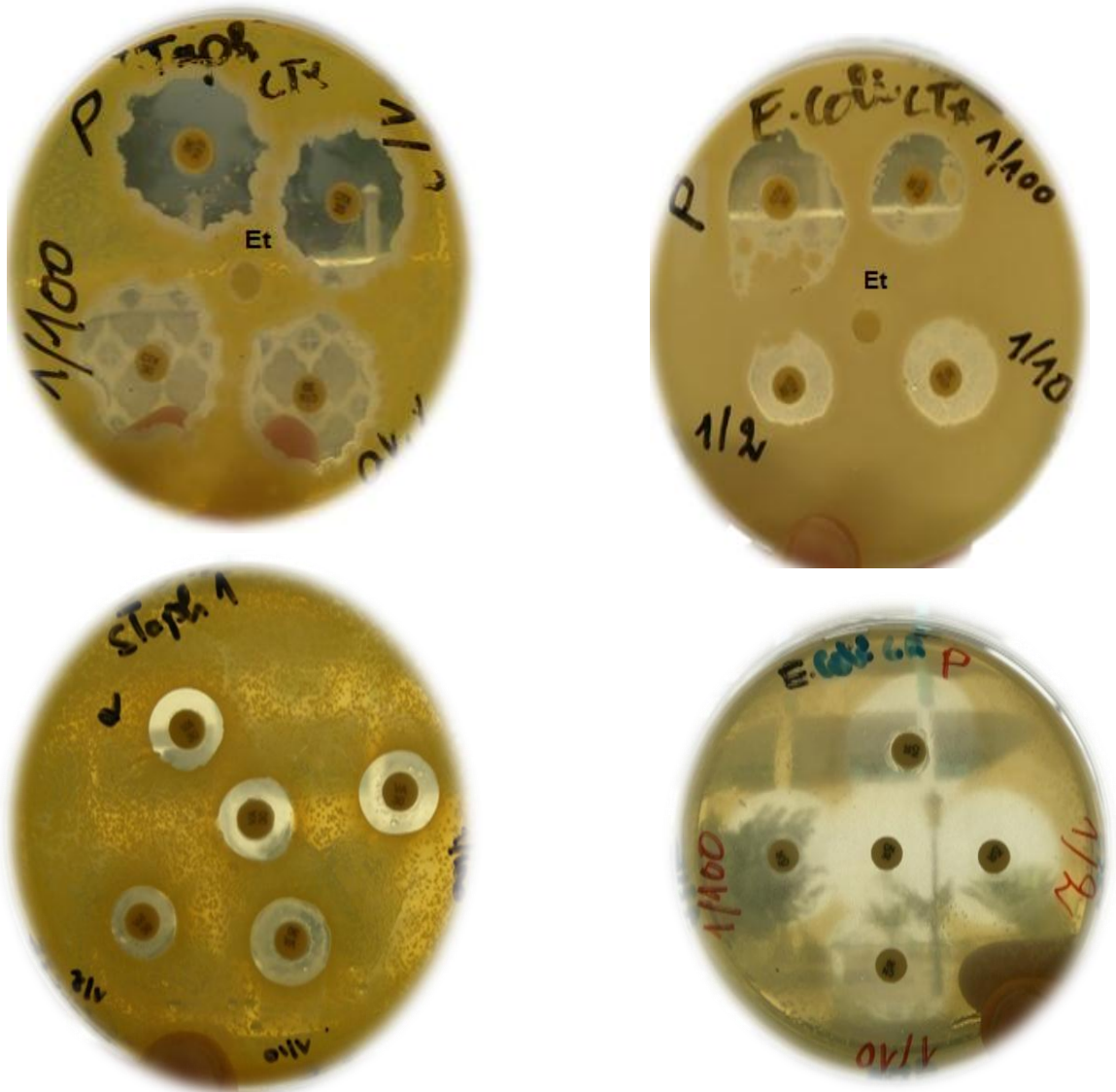


Figure 5: l'activité des antibiotiques avec l'huile d'olive Diluée par l'éthanol

P : Antibiotique imbibé dans l'huile d'olive brut
Et : disque imbibé dans l'éthanol
L'éthanol n'a montré aucun effet sur ces souches.

IV-Résultats et discussion

Tableau 3: Evaluation de l'activité d'antibiotique CTX avec de l'huile d'olive diluée par l'éthanol

Souches ATB	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922
éthanol	-	-
CTX + (huile d'olive+ éthanol 1/2)	-	21
CTX + (huile d'olive+ éthanol 1/10)	-	22
CTX + (huile d'olive+ éthanol 1/100)	-	24

(-: Diamètre du disque uniquement)

Tableau 4 : Evaluation de l'activité d'antibiotique GN avec de l'huile d'olive diluée par l'éthanol

Souches ATB	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922
éthanol	-	-
GN + (huile d'olive+ éthanol 1/2)	23	21
GN + (huile d'olive+ éthanol 1/10)	24	22
GN + (huile d'olive+ éthanol 1/100)	26	24

(-: Diamètre du disque uniquement)

Tableau 5 : Evaluation de l'activité d'antibiotique VA avec de l'huile d'olive diluée par l'éthanol

Souches ATB	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922
éthanol	-	-
VA+ (huile d'olive+ éthanol 1/2)	10	-
VA+ (huile d'olive+ éthanol 1/10)	11	-
VA+ (huile d'olive+ éthanol 1/100)	12	-

(-: Diamètre du disque uniquement)

IV-Résultats et discussion

D'après les tableaux 3, 4, et 5 la combinaison huile d'olive – antibiotique a montré un effet qui réduit l'action de l'antibiotique, sauf que cet effet n'est constaté qu'aux faibles dilutions (1/2 et 1/10⁶).

Afin de mieux comprendre l'effet de la combinaison huile d'olive – antibiotique nous avons testé cette combinaison mais cette fois ci sur milieu liquide.

IV-1-4- Effet de l'association l'huile d'olive - antibiotiques

La combinaison entre l'huile d'olive et les trois antibiotiques a été évaluée par des essais basés sur la méthode de diffusion par disque en milieu solide, leur action se traduit par l'apparition de zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques (Fig. 6).

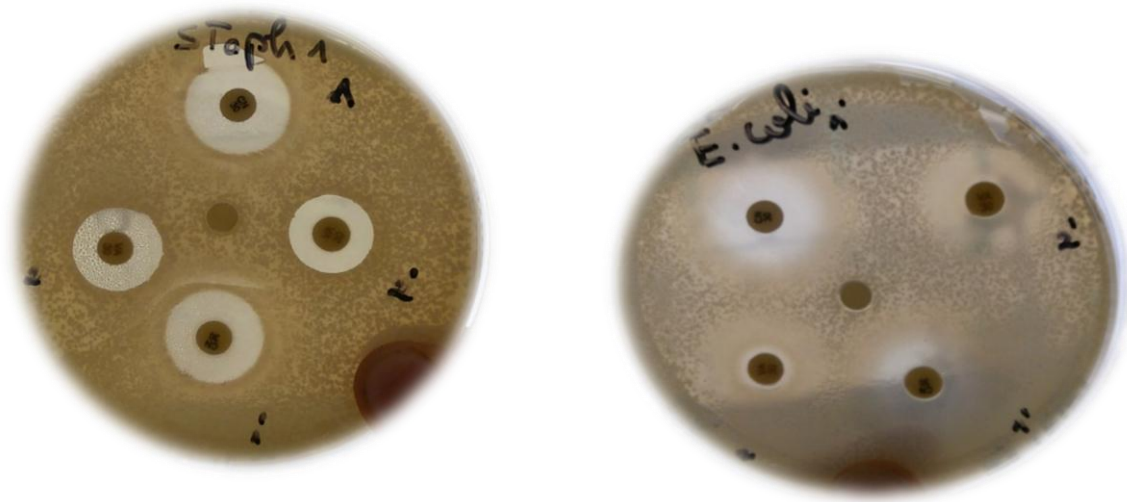


Figure 6: résultat de l'association de l'huile d'olive avec les antibiotiques

- 1 : Gentamycine 1' : Gentamycine associée avec l H. O
- 2 : Vancomycine 2' : Vancomycine associée avec l H. O (Staph)
- 2 : Céfoxitine 2' : Céfoxitine associée avec l H. O (E.Coli)

IV-Résultats et discussion

IV-1-5-Résultats de test sur milieu liquide

Tableau6: nombre de bactéries en présence de la gentamycine

volume(en μ l)	Nombre de bactéries d' <i>E. Coli</i> en présence de <i>La gentamycine</i> ($\times 10^8$)	Nombre de bactéries <i>S. aureus</i> en présence de <i>la gentamycine</i> ($\times 10^8$)
0	3.89	3.5
5	3.29	2.82
10	2.57	2.79
50	0.21	0.29
100	0.01	0.11

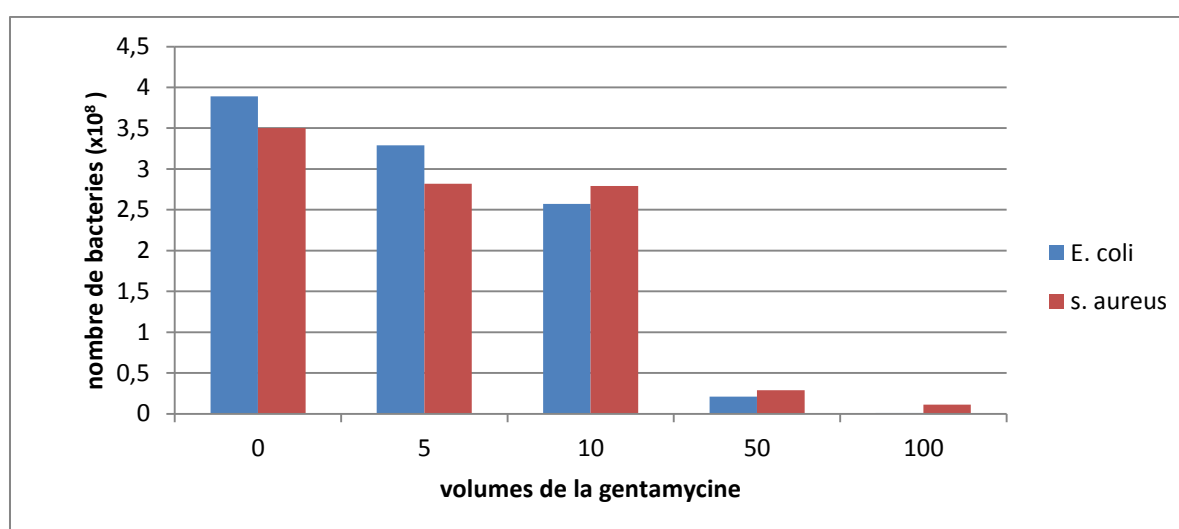


Figure 7 :Nombre de bactéries en présence de volumes croissante de la gentamycine.

Le tableau 6 et la figure 7 montrent un effet inhibiteur de la gentamycine sur la poussée bactérienne. Effet caractérisé par un phénomène de dose-effet.

IV-Résultats et discussion

Tableau7 : nombre de bactéries en présence d'HO

Volume (en μ l)	Nombre de bactéries <i>E. Coli</i> en présence de L'HO ($\times 10^8$)	Nombre de bactéries <i>S. aureus</i> en présence de l'HO ($\times 10^8$)
0	3.75	3.90
5	3.57	2.5
10	3.36	2.36
50	3.37	2.06
100	2.75	0.95

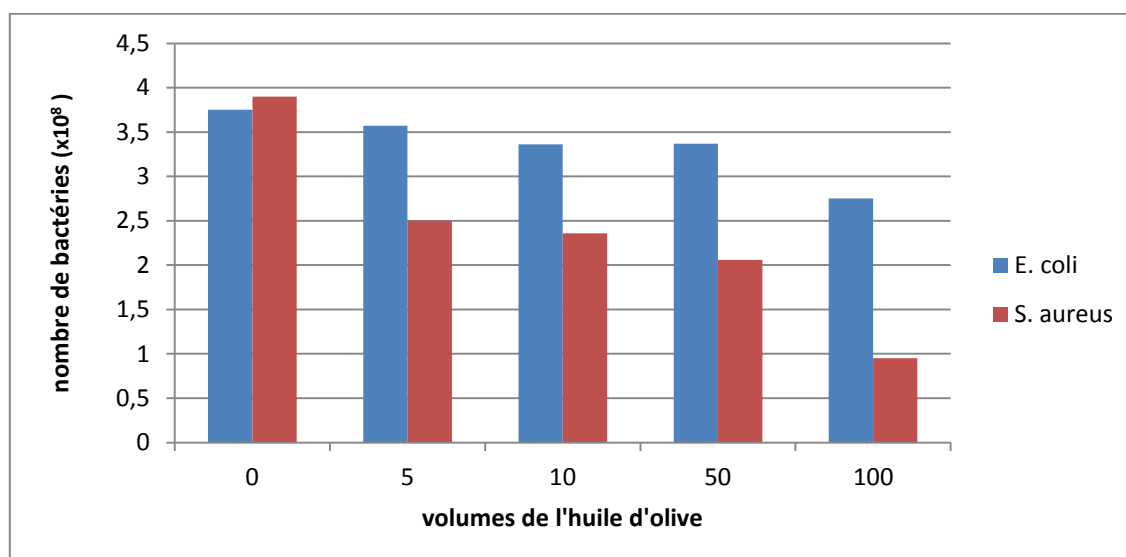


Figure 8 : Nombre de bactéries en présence de volumes croissante d'HO.

Concernant l'huile d'olive, nous constatons également une décroissance dans la poussée bactérienne avec l'augmentation du volume d'huile d'olive ajouté, mais moins significatif qu'avec l'antibiotique.

IV-Résultats et discussion

Tableau8 :résultats de la combinaison

Volume (en µl) d l'huile d'olive et la GN	Nombre de bactéries d'E.Coli ($\times 10^8$)	Nombre de bactéries de S.aureus ($\times 10^8$)
100 HO	2.75	0.95
100 ATB	0.01	0.11
100 HO+ 5 ATB	5.92	5
100HO + 10 ATB	3.13	4.76
100 HO +50 ATB	2.15	2.87
100 HO+ 100 ATB	2.99	3.75

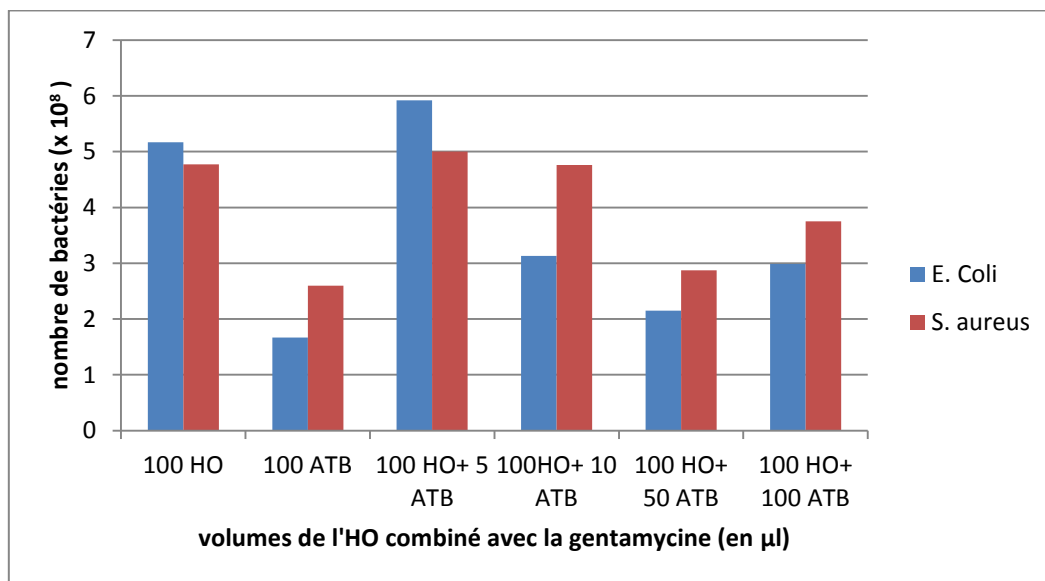


Figure 9 : résultat de la combinaison de la gentamycine avec l'huile d'olive.

L'association huile d'olive- différentes concentrations de l'antibiotique (gentamycine) a montré une meilleure poussée de bactéries par comparaison aux tests avec l'huile d'olive d'une part et avec la gentamycine d'autre part, ce résultat laisse supposé qu'en présence de l'huile d'olive (100µl) il y'a une meilleure poussée de bactéries en présence des faible doses d'antibiotiques, poussée bactérienne qui est toujours présente mais à un taux faible même en présence de la plus forte quantité de la gentamycine (10µl) ajouté.

Ces résultats suggérant un phénomène d'inhibition de l'activité de la gentamycine par la présence de l'huile d'olive dans le même mélange.

IV-Résultats et discussion

Nous avons débuté notre travail par l'étude de la sensibilité des 2 souches *staphylococcus aureus* et *E. Coli* vis-à-vis plusieurs familles d'antibiotiques. Suite aux résultats obtenus, nous avons préféré poursuivre notre étude sur 3 antibiotiques seulement qui sont la gentamicine, la vancomycine et la céfotaxime.

Concernant l'activité antibactérienne de l'huile d'olive seul, aucune sensibilité pour les 2 souches à l'huile d'olive. La présence de phénol dans l'huile d'olive conduit probablement à une mauvaise diffusion dans le milieu de culture, ce qui nous a conduit de faire des dilutions pour mieux étudier la combinaison entre l'huile d'olive et les antibiotiques, Seuls les tests sur milieu liquide ont montré un effet de la combinaison huile d'olive – Gentamycine.

Pour cela nous avons procédé à des dilutions de l'huile d'olive avant de le combiner avec les antibiotiques.

Les résultats de la combinaison entre l'huile d'olive dilué dans l'éthanol et les antibiotiques montrent une légère diminution des diamètres des zones d'inhibition par rapport à ceux obtenus avec les antibiotiques.

Pour bien approfondir cette étude, nous avons procéder à une combinaison entre l'huile d'olive et la gentamycine comme antibiotique qui a montré un effet sur les 2 souches dans le bouillon nutritif.

Les résultats obtenus ont montré, par comparaison à ceux obtenus avec l'huile d'olive et avec la gentamycine, une poussée importante des souches bactériennes avec les faibles concentrations d'antibiotiques et une poussée moindre avec les fortes concentrations d'antibiotiques, mais nettement plus élevée à celles obtenus avec la gentamycine.

A la lumière de ces résultats, il est permis de suggérer que l'huile d'olive inhibe l'action de la gentamycine.

Conclusion

L'objectif de notre travail est de chercher l'effet de l'association entre un produit naturel (l'huile d'olive) et des produits de synthèse pour évaluer l'effet de l'un sur l'action de l'autre sur deux souches bactérienne *Staphylococcus aureus* (Gram+) et *Escherichia coli* (Gram-).

Pour cela nous avons utilisé deux méthodes différentes : la diffusion en milieu solide et la dilution en milieu liquide.

Pour la diffusion sur milieu solide, cette méthode conduit à évaluer la croissance bactérienne par l'utilisation de l'antibiogramme pour mesurer les diamètres des zones d'inhibition. La technique de la dilution en milieu liquide, c'est pour évaluer la croissance bactérienne.

Cette étude a montré un effet inhibiteur de l'huile d'olive sur l'action de la gentamycine, antibiotique à large utilisation dans le traitement et la prévention des infections cet effet a été démontré lors d'une combinaison mais sur milieu liquide, car aucun effet n'apparaît sur milieu solide.

Il est donc nécessaire d'étudier les mécanismes de diffusion et aussi de déterminer les composants de l'huile d'olive qui dispose d'un effet antibactérien et/ou qui par un mécanisme qui reste à identifier inhibe ou bloque l'action de l'antibiotique.

Summary :

In this work we evaluated the sensitivity of two bacterial strains to olive oil and a group of antibiotics, and then we looked for the effect of olive oil on the action of an antibiotic.

The combination showed on liquid medium an inhibitory effect of olive oil on the action of Gentamycin on the 2 strains : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Keys words : Olive oil, Antibiotic, Gentamicin, combination.

Références bibliographique

- Alais G., Linden G. (1997). Biochimie alimentaire. 4^{ème} édition. Parie, 150p.
- Allalout A., Krichène D., Methenni K., Taamalli A., Oueslati I., Daoud D., Zarrouk M. (2009). Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Sci. Hortic.* 120, 77–83.
- Asker D., Beppu T., Ueda K. (2007) Unique diversity of carotenoid-producing bacteria isolated from Misasa, a radioactive site in Japan. *Appl Microbiol Biotechnol* : 383–392.
- Azabou S., Mechichi T. (2007). "Isolation and characterization of a mesophilic heavy-metals-tolerant sulfate-reducing bacterium *Desulfomicrobium sp.* from an enrichment culture using phosphogypsum as a sulfate source." *J Hazard Mater*: 264-270.
- Ben Temime S., Manai H., Methenni K., Baccouri B., Abaza I., Sanchez Casas J., Bueno O., Zarrouk M. (2008). Sterolic composition of Chétoui virgin olive oil: Influence of geographical origin. *Food Chem.* 110: 368–374.
- Castiglione C. Une vie d'olivier Digne-les-Bains: Haute Provence Edition, 1993, 190p.
- Cichelli A., Pertesana G. (2004). High performance liquide chromatographic analysis of chlorophylls approach to variety classification. *J. chromatogr.* A1046, 141-146.
- Greenblat C. L., Baum J., et al. (2004). "*Micrococcus luteus* – Survival in Amber." *Microbial Ecology*: 120-127.
- Loussert R., Brousse G. (1978). L'olivier, techniques agricoles et production méditerranéenne Paris : Maisonneuve et Larose ,128p.
- Mergeay M., D., Nies, et al. (1985). "*Alcaligenes eutrophus* CH34 is a facultative chemolithotroph with plasmid-bound resistance to heavy metals." *J Bacteriol*: 328-334.
- Nies H., Kelly D., et al. (1999). "Microbial heavy-metal resistance." *Appl Microbiol Biotechnol*: 730-750.
- Oliveras-Lopez M., Innocenti J., Giaccherini M., Ieri F., Romani A., Mulinac N. (2007). Study of the phenolic composition of spanish and italian monocultivar extra virgin olive oils: Distribution of lignans, secoiridoidic, simple phenols and flavonoids. *Talanta* 73, 726–732.
- Phillips K.M., Ruggio D.M., Toivo J.I., Swank M.A., Simpkins A.H. (2002). Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *J Food Comp Anal*; 15 : 123-42.
- Romero C., Medina E., Vargas J., Brenes M., De Castro A. (2007). In vitro activity of olive oil polyphenols against *Helicobacter pylori*. *J. Agric. Food Chem.* 55, 680–686.
- Ryan D., Robards K., Lavee S. (1998). Evolution de la quantité de l'huile d'olive. *Olivae*.72 : 23-41.

Références bibliographique

- Salas J. J., Sanchez J., Ramli U. S., Manaf A., Williams M., Harwood J. L. (2000). Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. *Progress in Lipid Research*, Vol. 39, pp.151-180.
- Soulier et Farine. (1992). *Manuel des corps gras*. Ed. Lavoisier, test doc. 1,104-106.
- Suzuki Y. S., Kelly D., et al. (2003). Microbial populations stimulated for hexavalent uranium reduction in uranium mine sediment. *Appl Environ Microbiol*: 1337-1346.
- Taghavi S., Mergeay M., van der Lelie D. (1997). *Plasmid*: 22–34.
- Tsimidou M., Papadopoulos G., Boskou D. (1992). Phenolic compounds 443 and stability of virgin olive oil-Part I. *Food Chem.* 45, 141–144.
- Visioli F., Galli C., (1998). Olive Oil Phenols and their Potential Effects on Human Health *J. Agric. Food Chem.* 46, 4292–4296.
- Zarrouk M., Haddada F.M., Krichène D., Manai H., Oueslati I., Daoud D. (2008). Analytical evaluation of six monovarietal virgin olive oils from Northern Tunisia. *J. Lipid Sci Technol.* 110, 905–913.
- Zhuang W. Q., Tay J. H., et al. (2003). Importance of Gram-positive naphthalene-degrading bacteria in oil-contaminated tropical marine sediments. *Lett Appl Microbiol*: 251-270.

Partie bibliographique

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES

CHAPITRE 2

GENERALITES SUR LES HUILES D'OLIVES

Partie expérimentale

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES