

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/ Biologie moléculaire des procaryotes

Thème

Contribution à l'étude de l'effet antibactérien de
quelques plantes médicinales

Présenté par :

Boudjehem Nadir

Charchar Azzeddine

Foughali Khaled

Devant le jury composé de :

Président : Mme. Bendjeddou Dalila (pr.).
Examineur : Mme. Dafri-Ayad Hayette (M.A.).
Encadreur : Mr. Benouareth DjamelEddine (Pr.).

Juin 2011

Remerciements

*Au terme de ce travail nous tenons à remercier avant tous
dieu le*

*Tout puissant qui avec son vouloir et pouvoir nous somme
arrivés à*

Réaliser ce travail.

Nos vifs remerciements vont :

*A. M^{eme}. Bendjedou D, professeur (Université de Guelma),
d'avoir accepté de présidé ce*

Jury,

*A M^{eme}. Ayad H, Maître assistante (Université de Guelma),
d'avoir accepté d'examine ce travail,*

*Et enfin toute notre gratitude et reconnaissance vont à
notre*

*Promoteur le professeur Benouareth Dj, (Université de
Guelma), qui avec son bonté et ses efforts inépuisables
N'a cessés de nous orienter et de nous offrir ces conseils et
son Soutien.*

*Sans oublier toutes les personnes qui nous ont facilité la
tache*

*Chacun au niveau de son service et à tous ceux qui ont
contribués de*

Prés ou de loin pour que ce travail voie le jour.

Merci à tous

Azzeddine

Khaled

Nadir

Dédicace



Aucune dédicace ne saurait exprimer tout ce que je ressens pour vous mes cher parent. Je vous remercie pour tout le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

Je Dédie aussi mon Modest travail à mes frères et sœur a qui je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments de gratitude et de tendresse envers vous. Puisse dieu et la fraternité nous unissent à jamais.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de se modeste travail.

Nadir

Dédicace



Pouvant, il faut parcourir des milliers kilomètres, pour enfin se rendre compte que ce qu'on a toujours cherché, est là bas d'où on vient, et qu'il fallait tout ce chemin pour en prendre conscience.

Le plus important, n'est pas d'où on vient ni où on va, mais ce qu'on a appris en cours de route, les obstacles qu'il fallu surmonter pour y arriver espérant toujours, mais agissant surtout.

Je dédie ce modeste travail :

Aux plus chers être dans ma vie, mes parents qui m'ont soutenus et encourage durant toute la période de mes études et sacrifiés jours après jours pour mon bonheur.

*A mes frères et mes sœurs Nabil, Halim, Rabeh, Wahida,
Monira*

A ma grande mère Fatima

A tous mes aïmes, mes collages et les gents qui m'aime.

Charchar Azzeddine

Dédicace



Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et ma gratitude

A mes frères et sœurs qui ont mon soutenue dans l'élaboration de ce travail.

A tous mes Enseignant et mes encadreurs de l'université de 8 mai 1945.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de se modeste travail et surtout le personnel de la D.D.S et de l'hôpital du Ibne Zahr et le nouveau, qui nous ont apportées leurs précieuse aide.

Avec tous mes sentiments de reconnaissance et de gratitude.

Khaled

Listes des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Partie I : Synthèse Bibliographique	
I-La phytothérapie	02
I- 1- Définition de la phytothérapie	02
I-2- Naissance (Historique) de la phytothérapie	02
I- 3- Différents types de la phytothérapie	03
I-3-1- Aromathérapie	03
I-3-2- Gemmothérapie	03
I-3-3- Herboristerie	03
I-3-4- Homéopathie	03
I-3-5- Phytothérapie pharmaceutique	03
I-4- Les avantages de la phytothérapie	03
I-5- Les plantes médicinales	04
I-6- Les plantes médicinales et la recherche pharmaceutique	04
I-7- Modes de Préparation des Plantes pour la Phytothérapie	05
I-7-1- L'Infusion	05
I-7-2- La Décoction	05
I-11-3- La Macération	05
I-7-4- Les Extraît	05
I-7-5- L'Alcoolat et l'Alcoolature	06
I-7-6- La Teinture Alcoolique ou Alcoolé	06
I-7-7- La Teinture	06
I-7-8- L'Huile et l'Huile Essentielle	06
I-7-9- L'expression à froid	07
I-7-10- Le Sirop	07
I-7-11- Le Cataplasme	07
I-7-12- La Poudre	08
I-8- Quelques principes actifs des plantes médicinales	08
II-L'antibiogramme	09
II-1- La bactériologie	09
II-2- Définition de la bactérie	09
II-3- Classification et nomenclature bactériens	09

II-4- Structure et composition de la cellule bactérienne	10
II-4-1- Le nucleoïde (chromosome)	10
II-4-2- Le cytoplasme	10
II-4-3- Les ribosomes	11
II-4-4- Les granules de réserve	11
II-4-5- Les vacuoles gazeuses	11
II-4-6- Les carboxysomes	11
II-4-7- Les thylacoïdes	12
II-4-8- La membrane cytoplasmique	12
II-4-9- La paroi cellulaire	12
II-5- Les tests de différenciation bactérienne	12
II-6- Les antibiotiques	13
II-6-1- Définition de l'antibiotique	13
II-6-2- La CMI	13
II-6-3- La CMB	13
II-6-4- Critères de Classification des antibiotiques	14
II-6-5- Modes d'action des antibiotiques	14
II-6-6- La synergie et l'antagonisme entre antibiotique	15
II-6-7- La résistance bactérienne aux antibiotiques	16
II-6-8- Détection de la résistance aux antibiotiques basée sur l'ADN (génotypique)	16
II-6-9- L'effet post-antibiotique	16
II-7- L'antibiogramme	17
II-7-1- Les différentes méthodes de l'antibiogramme	17
II-7-1-1- La méthode de diffusion	17
II-7-1-2- La méthode de dilution	18
II-7-1-3- La bandelette E-test	19
Partie II : Expérimentale	
I- Matériel	20
I-1- Matériel végétale	20
I-1-1- Gingembre	20
I-1-2- Clou de girofle	21
I-1-3- Ail	22
I-1-4- Pamplemousse	24
I-2- Les bactéries	24
I-2-1- <i>Staphylococcus aureus</i>	24

I-2-2- <i>Escherichia coli</i> (colibacille)	25
I-2-3- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
I-2-4- <i>Salmonella typhimurium</i>	27
I-2-5- <i>Kleibseilla pneumoniae</i>	28
II- Méthodes	29
II-1- Obtention des extraits aqueux totaux de clou de girofle et les racines de gingembre	29
II-2- Obtention des extraits du zeste de pamplemousse	30
II-3- Obtention des extraits de gingembre et de clou de girofle par la méthode des solvants successive	31
II-4- Obtention de l'extrait de l'ail	32
II-5- Préparation de l'inoculum	32
II-6- Préparation des disques	32
II-7- Test de sensibilité	32
III- Résultats et discussion	
III-1- Comportement d' <i>E. coli</i>	34
III-2- Comportement de <i>salmonella typhimurium</i>	37
III-3- Comportement de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
III-4- Comportement de <i>Kleibseilla pneumoniae</i>	43
III-5- Comportement de <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Conclusion	49
Perceptives	49
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des figures

figure	titre	page
01	Structure d'une cellule bactérienne composite	10
02	schéma représentatif d'un antibiogramme par la méthode de diffusion	18
03	schéma représentatif des dilutions de la méthode de dilution	18
04	schéma représentatif du E test	19
05	Racines de gingembre	21
06	Clou de girofle	22
07	ail	23
08	pamplemousse	24
09	broyage en mortier en porcelaine	29
10	agitation pendant 24 h	29
11	Extraits gingembre et clou de girofle	30
12	Evaporation par rota vapeur	31
13	technique de l'antibiogramme	33
14	Résultats de l'antibiogramme(a)et présentation graphique(b) des testes sur <i>E.coli</i>	35
15	Résultats de l'antibiogramme(a)et présentation graphique(b) des testes sur <i>salmonella typhimeruim</i>	38
16	Résultats de l'antibiogramme(a)et présentation graphique(b) des testes sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
17	Résultats de l'antibiogramme(a)et présentation graphique(b) des testes sur <i>Kleibseilla pneumonie</i>	44
18	Résultats de l'antibiogramme(a)et présentation graphique(b) des testes sur <i>Staphylococcus aureus</i>	47

Liste des tableaux

tableau	titre	page
I	Quelques principes actifs des plantes médicinales	08
II	Sites d'action des différentes familles d'antibiotiques	15
III	Résultats avec <i>E.coli</i>	34
IV	Résultats avec <i>salmonella typhimeruim</i>	37
V	Résultats avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
VI	Résultats avec <i>Kleibseilla pneumonie</i>	43
VII	Comportement de <i>Staphylococcus aureus</i>	46

Produced with ScanTOPDF

Liste des abréviations

- ADH : Arginine dihydrolase
- ADN : Acide désoxyribonucléique
- CdG Aq : Clou de girofle aqueux
- CdG Cl : Clou de girofle par chloroforme
- CdG Met : Clou de girofle par méthanol
- CMB : Concentration Minimale Bactéricide
- CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
- ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
- Gn Aq : Gingembre aqueux
- Gn Cl : Gingembre par chloroforme
- Gn Met : Gingembre par méthanol
- HE: Huile Essentielle
- LCD: Lysine décarboxylase
- PH : Potentiel d'hydrogène
- ODC : Ornithine décarboxylase
- ORL : Oto-rhino-laryngologie
- RFLP: Restriction fragment length polymorphism
- SSLP: Simple séquence length polymorphism

Introduction

Produced with ScantOPDF

Introduction

Depuis longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal, voire l'unique recours de la médecine de nos grands parents, malgré le développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies qui étaient souvent mortelles.

Le continent africain est doté d'une biodiversité végétale parmi les plus riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. Plusieurs études et recherches ont été effectuées et ont montré l'efficacité de divers plantes médicinales dans le traitement des maladies infectieuses.

L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement des maladies infectieuses nécessite d'abord, des étapes à suivre à fin de préparer ces plantes. Ces étapes concernent le choix de la plante, la partie et la méthode de la récolte ainsi que la conservation.

L'extraction des principes actifs des plantes constitue une opération très importante. Plusieurs méthodes ont été décrites par les expérimentateurs, mais aucune méthode ne permet l'extraction de tous les principes actifs.

Notre travail consiste à étudier l'effet antibactérien de quatre plantes médicinales qui sont ; le clou de girofle, les racines de gingembre, les zestes de pamplemousse ainsi que l'ail, avec la description des différentes méthodes de préparation des extraits de ces plantes.

Nous allons étudier les effets des extraits de ces plantes sur la croissance *in vitro* de quelques bactéries impliquées dans des différentes pathologies : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *salmonella typhimurium* et *Escherichia coli*.

Notre étude s'inscrit en trois parties :

- Une partie bibliographique contenant des connaissances sur la phytothérapie et informations sur la bactériologie.
- Une partie expérimentale dans laquelle nous expliquons les méthodes de la préparation des extraits de plantes étudiées ainsi que les essais antibactériens.
- Enfin une partie englobant les résultats obtenus, la discussion de ces résultats avec une conclusion et des perspectives de recherches.

Partie I :
Synthèse
bibliographique

Produced with Scantopdf

Chapitre I :
La
phytothérapie

Produced with
Scantopdf
www.scantopdf.eu

I-La phytothérapie

I-1- Définition de la phytothérapie

La phytothérapie est l'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques. Ce terme vient du grec : « phytos » : la plante et « therapiea » : la thérapie.

Il s'agit d'une des sciences médicales les plus anciennes, elle est parfois connue aujourd'hui sous le nom de « remède de bonne femme », étymologiquement : Bona fama = grande renommée.

Une citation de Galien dit : « la meilleure médecine, c'est la nature car elle guérit les trois quart de toutes les maladies ». Aujourd'hui, 60 % des spécialités médicamenteuses employées en médecine courante sont issues, directement ou par héli-synthèse, du règne végétal, (Grosmond., 2001).

I-2- Naissance (Historique) de la phytothérapie

Depuis les temps les plus reculés, la préoccupation de l'homme a été la satisfaction de ses besoins alimentaires. Il a développé ainsi une relation intime avec le lieu qui l'entourait. Pour se soigner, il a appris à ses dépens à discerner les ressources végétales animales nécessaires à sa survie. Pour cela il s'est inspiré des mœurs des animaux, de son expérience et parfois de son imagination.

Comme la transmission du savoir était orale, les connaissances acquises se sont transmises de génération en génération. Le détenteur de ce savoir a connu la notoriété et a acquis ainsi un pouvoir qui était souvent relié à celui de chef tribal ou de guérisseur.

C'est seulement à partir de 4000 ans avant Jésus-Christ que l'on trouve des documents écrits où sont mentionnées des drogues comme l'opium, la jusquiame... etc. Tandis que les civilisations babylonienne, sumérienne et égyptienne accumulent les connaissances empiriques concernant les plantes médicinales, les arbres diffusent ce savoir autour du bassin méditerranéen. La civilisation égyptienne a joué grand rôle dans la naissance des civilisations de l'Afrique noire, l'on comprend les similitudes de pensée et la transmission du savoir. Quoi qu'il en soit, on a retrouvé dans la pharmacopée africaine des ressemblances avec ce qui s'est passé. La théorie des signatures imaginée par Paracelse qui est basée sur la croyance que l'aspect, la couleur et la saveur de chaque plante indiquent des propriétés médicinales, a permis en Afrique comme en Europe un développement important de l'emploi de la

pharmacopée traditionnelle. Ainsi les racines jaunes sont très employées dans les ictères : *Tinospora bakis*, *Cochlospermum tinctorium*, et les plantes amères sont très souvent des fébrifuges et des antimalariques : *Azdiachta indica*, *Khyya senegalensis* etc...

Depuis quelques années, de nombreux chercheurs ont commencé à étudier scientifiquement les plantes médicinales. Certaines utilisations ont été confirmées et les principes actifs isolés. Mais il reste un travail important à faire pour mettre sur la marché parallèlement aux médicaments dits (modernes) des plantes bien analysées sur le plan toxicologique et pharmacologique, (Pousset, 2004).

I-3- Différents types de la phytothérapie

I-3-1- Aromathérapie : est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou les huiles essentielles, substances aromatiques sécrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau, (Strang, 2006).

I-3-2- Gemmothérapie : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules, (Strang, 2006).

I-3-3- Herboristerie : correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération, (Strang, 2006).

I-3-4- Homéopathie : a recours aux plantes d'une façon prépondérante mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale, (Strang, 2006).

I-3-5- Phytothérapie pharmaceutique : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisat etc... (Strang, 2006).

I-4- Les avantages de la phytothérapie

Malgré l'énorme progrès réalisé par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages, n'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières

années, les hommes n'avaient que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sanieuses telle que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes revient au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques considéré comme la solution quasi universelles aux infections graves décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leurs résistent de plus en plus.

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels, bien respecter par l'organisme, et souvent associés aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme et l'arthrite, (Inserin *et al.*, 2001).

I-5- Les plantes médicinales

Une plante médicinale est une plante utilisée pour prévenir, soigner, ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses.

Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne, (Farnsworth *et al.*, 1986).

I-6- Les plantes médicinales et la recherche pharmaceutique

La médecine traditionnelle et moderne a des approches des médicaments radicalement différentes. La médecine traditionnelle s'appuie sur un savoir empirique établi depuis des milliers d'années, seuls l'usage et les succès d'une préparation à base de plantes ont validé l'efficacité du traitement ou du moins fait de réputation. Il en va autrement de la médecine moderne qui, avant de mettre un nouveau médicament à disposition, doit avoir démontré son efficacité avec un minimum d'effets secondaires, chez l'animal puis chez l'homme, ce qui nécessite 10 à 15 ans d'études. Néanmoins, l'efficacité de quelques plantes médicinales a été démontrée expérimentalement grâce à la pharmacologie et certaines molécules responsables de ces activités sont devenues des médicaments majeurs de la médecine moderne. L'industrie pharmaceutique reconnaît donc les plantes comme une source de nouvelles molécules actives et de nouveaux médicaments ; pour exploiter ce potentiel, une stratégie de recherche a été

mise en place, s'appuyant sur la médecine populaire et sur l'exploration de la biodiversité, (Hallé *et al.*, 2008).

I-7-Modes de Préparation des Plantes pour la Phytothérapie (Zahalka, 2009).

En phytothérapie, il y a plusieurs modes de préparation des plantes, selon l'usage que l'on veut en faire.

I-7-1- L'infusion

On obtient une infusion, en plongeant une plante pendant une durée de 5 à 15 minutes (selon la plante) dans de l'eau bouillante dans un récipient couvert. Pour les fleurs, mettez-les dans le fond d'un pot, et versez l'eau bouillante dessus. Avant d'être utilisée l'infusion doit être passée (c'est-à-dire filtrée à travers un morceau de gaze par exemple).

I-7-2- La décoction

On obtient une décoction, en faisant bouillir de façon prolongée, et à feu doux, une plante (avec un couvercle sur la casserole). Il faut mettre la plante dans l'eau encore froide, puis la faire bouillir entre 2 à 15 minutes (sachant que les écorces et les racines doivent bouillir plus longtemps que les feuilles et les tiges). Passez ensuite la décoction, avant de l'utiliser.

I-7-3- La macération

On obtient une macération, en laissant une plante dans un solvant (eau, vin, alcool ou huile) à froid pendant un temps assez long (de quelques heures à plusieurs jours, voire plusieurs semaines). La macération doit se faire dans un récipient à l'abri de l'air et de la lumière. Une fois le temps écoulé, il suffit de filtrer le mélange à travers un filtre papier, ou du coton hydrophile non tissé, et de stocker la macération obtenue dans un récipient bien bouché.

I-7-4- Les extraits

Il existe différents types d'extraits. L'extrait fluide s'obtient en plongeant une plante dans une masse d'eau ou d'alcool égale à plusieurs fois la masse de plantes, puis en laissant s'évaporer jusqu'à ce que le poids du liquide soit égal à celui de la masse de plante initiale. L'extrait mou, est basé sur le même principe, sauf que l'on pousse l'évaporation jusqu'à ce que

le produit ait la consistance du miel. Les autres intermédiaires entre ces deux niveaux d'évaporation sont appelés simplement extraits.

I-7-5- L'alcoolat et l'alcoolature

On obtient une alcoolature en plongeant une plante fraîche, pendant un temps assez long (généralement 8 jours), dans une masse d'alcool à 90 ou 95 ° égale à celle de la plante. Pour des plantes très absorbantes, qui ne s'humectent pas bien avec l'alcool, il faudra augmenter la proportion d'alcool à 3 part d'alcool pour 2 de plantes, voire même pour certaines plantes 4 parts d'alcool pour 2 de plantes (soit deux fois plus d'alcool que de plantes). Faites attention dans ce cas à modifier la posologie en conséquence. Le mélange doit être remué de temps en temps, puis passé et filtré. L'alcoolature doit ensuite être stockée dans un flacon hermétique. Sachez que l'alcoolature se conserve peu de temps, et que 50 gouttes d'alcoolature correspondent à peu près à 1 g. On obtient l'alcoolat en distillant de l'alcool sur une ou plusieurs plantes.

I-7-6- La teinture alcoolique ou alcoolé

On obtient une teinture alcoolique en faisant macérer dans l'alcool à 60° une plante, à raison de 5 parts d'alcool pour une part de plante.

I-7-7- La teinture

On obtient la teinture en laissant macérer des plantes dans de l'eau, de l'alcool à 60° ou de l'éther.

I-7-8- L'huile et l'huile essentielle

On obtient l'huile en laissant macérer à température douce voir tiède pendant 3 semaines, la moitié d'un bocal rempli de plantes fraîches ou sèches ou de racines broyées, dans de l'huile remplissant le reste du bocal. Remuez de temps en temps le mélange, puis décantez le tout, et mettez l'huile dans un flacon. L'huile rancit vite, il faut donc en faire peu à la fois, et en refaire souvent.

On obtient l'huile essentielle par distillation à la vapeur. Pour cela il faut un ballon, un alambic, et un récipient pour recueillir le distillat. Les plantes doivent être fraîches et propres,

et coupées en petits morceaux, ou grossièrement broyées. Placez les dans le ballon avec une bonne quantité d'eau de source filtrée (généralement deux à trois fois le poids de plante). Le mélange dans le ballon doit être portée à ébullition, la vapeur entraîne avec elle le principe actif volatile de la plante, elle se condense dans le serpentin de l'alambic, et s'écoule dans le récipient à la sortie. Généralement la densité de l'eau et celle du principe actif sont différentes, ce qui permet de les séparer facilement ensuite dans une ampoule à décanter, ou un vase à décantation (généralement l'essence surnage au dessus de l'eau, sauf pour l'huile d'amande douce).

I-7-9- L'expression à froid

Cette technique d'extraction est utilisée pour obtenir des essences d'agrumes contenues dans les zestes. Autrefois, on frottait le fruit manuellement sur les parois garnies de picots d'une écuelle de bois. L'huile ainsi exprimée était recueillie à l'aide d'une éponge. Elle était ensuite soigneusement filtrée. De nos jours, les fruits sont pressés à froid. Ensuite, par centrifugation, on sépare l'huile essentielle du jus de fruit. Cette technique permet d'extraire à faible coût des essences de bonne qualité. Les agrumes les plus utilisés sont la bergamote (*Citrus bergamia*), la mandarine, l'orange et le citron.

I-7-10- Le sirop

On obtient du sirop simple en dissolvant à froid ou à chaud 180 g de sucre dans 100 g d'eau. On peut ensuite y ajouter des principes actifs selon les besoins.

I-7-11- Le cataplasme

Le cataplasme s'obtient en broyant la plante fraîche, et en l'appliquant ensuite sur la zone à traiter. Afin d'éviter que le cataplasme n'adhère (entre autres sur une plaie), il vaut mieux appliquer celui-ci à travers un morceau de gaze. Les plantes doivent être parfaitement propres avant d'être broyées, et doivent même être trempées dans une solution antiseptique neutre si elles doivent être appliquées sur une plaie, et qu'elles ne sont pas elles mêmes antiseptiques. On peut aussi faire des cataplasmes chauds, en utilisant des plantes cuites. Dans ce cas faire attention de ne poser le cataplasme qu'une fois qu'il a atteint une température acceptable (afin d'éviter de brûler la personne). Une fois posé, le cataplasme doit être recouvert d'un linge, ou d'une bande si nécessaire.

I-7-12- La poudre

La poudre s'obtient en pulvérisant une plante, soit au moulin à café, soit au mortier et au pilon, avec du gros sucre en guise de meule (attention de retirer la masse de sucre pour le calcul des doses). Vous pouvez faciliter la pulvérisation en passant la plante au four à feu très doux pendant quelques instants.

I-8- Quelques principes actifs des plantes médicinales (Tab I)

Tableau I : Quelques principes actifs des plantes médicinales, (Benhamza, 2008).

Principes actifs des plantes médicinales	Effets
Phénols	anti-inflammatoires et antiseptiques.
Flavonoïdes	anti-inflammatoires et antivirales et des effets protecteurs sur le foie.
Tanins	astringentes, cytotostatiques et bactéricides.
Anthocyanes	puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres.
Coumarines	fluidifier le sang, soigne les affections cutanées, et un puissant vasodilatateur coronarien.
Saponines	synthétise la pilule contraceptive, facilitent l'absorption des aliments.
Anthraquinones	ils contribuent à transférer les liquides des tissus et du système circulatoire vers les conduits urinaires.
Glucosides cyanogéniques	un effet sédatif et relaxant sur le cœur et les muscles, permettent de supprimer ou de calmer les toux sèches et irritantes.
Polysaccharides	utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés, ou la paroi des intestins enflammée et douloureuse.
Glucosinolates	Appliqués comme cataplasme sur les articulations douloureuses, ils augmentent le flux sanguin dans la zone irritée, favorisant ainsi l'évacuation des toxines.
Substances amères	stimule les sécrétions et augmente l'appétit et améliore la digestion.
Alcaloïdes	lorsqu'elles sont bien dosées, elles deviennent des médicaments puissants.

Chapitre II :

Bactériologie

Produced with ScantPDF

II-1- Bactériologie

On place les bactéries dans la catégorie des microorganismes. Ceux-ci comprennent, outre les bactéries, plusieurs autres microorganismes : les virus, les algues, les champignons, tous les microorganismes ne sont donc pas des bactéries. Il faut aussi faire la distinction entre microbiologie (l'étude des microorganismes) et bactériologie (l'étude des bactéries), (Singleton, 2008).

II-2- Bactérie définition

Les bactéries sont des organismes minuscules que l'on trouve à peu près partout. Elles manifestent parfois leur présence par les blessures qui s'infectent, le lait surnit, la viande se putréfie mais habituellement nous les ignorons par ce que leurs activités sont moins évidentes et à cause de leur petite taille. Il a fallu attendre l'apparition du microscope, au siècle, pour que l'on découvre leur existence.

Dans la plus part des cas, la bactérie est un être unicellulaire autonome. La cellule bactérienne présente une organisation procaryote et diffère de façon marquée des cellules eucaryote des animaux et des plantes, (Singleton, 2008).

II-3- Classification et nomenclature des bactériens

Les bactéries peuvent se différencier, par exemple, par leur forme, leur taille ou leur structure. Par leurs activités chimiques, par leurs éléments nutritifs qui leur sont nécessaire, par la forme de l'énergie qu'elles utilisent, par les conditions physiques dans lesquelles elles peuvent croître, par leurs réactions à certains colorants.

De tels caractères facilement vérifiables même dans un laboratoire modestement équipé sont largement utilisés pour classer (et identifier) les bactéries. Comme les autres règnes biologiques. Les bactéries sont réparties en catégories hiérarchisées (familles, genres, espèces). Les espèces qui sont suffisamment semblable sont placées dans un même genre, et les genres qui montrent une certaine similarité sont groupés dans la même famille. Une espèce peut être subdivisée en deux souches ou plus. Il s'agit d'organismes qui correspondent à la même définition d'espèce, mais qui présentent entre eux des différences mineures, (Singleton, 2008).

II-4- Structure et composition de la cellule bactérienne

La structure fine (ultrastructure) aussi bien que la composition chimique de cellules d'espèces différentes peut varier grandement. C'est pourquoi il n'existe pas de bactérie type. La figure 01 montre de façon très schématique, une bactérie composite. Il est important de noter que toutes les bactéries ne possèdent pas toutes les structures indiquées dans ce diagramme et que par contre, certaines bactéries présentent des structures qui n'y apparaissent pas (Fig01), (Singleton, 2008).

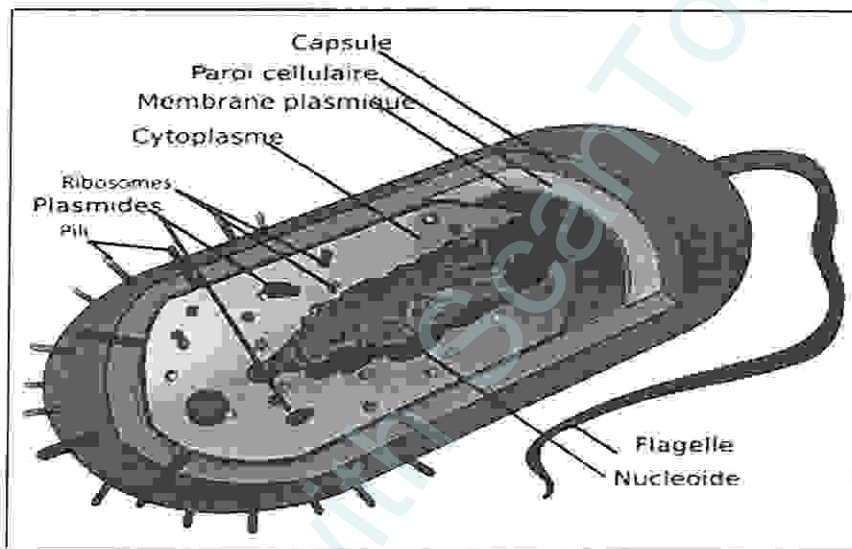


Figure 01 : Structure d'une cellule bactérienne composite (1).

II-4-1- Le nucléoïde (chromosome)

Chez les bactéries, le chromosome consiste typiquement en une boucle (fermée) d'acide désoxyribonucléique. Il y a cependant des espèces (par exemple *Borrelia burgdorferi*) dont le chromosome est fait d'une molécule d'ADN linéaire. Dans l'un et l'autre cas, le chromosome est considérablement replié en un corpuscule compact, le nucléoïde, (Singleton, 2008).

II-4-2- Le cytoplasme

Le cytoplasme est un fluide aqueux (à base d'eau) qui contient des ribosomes, des éléments nutritifs, des ions, des enzymes, des déchets et diverses molécules impliquées dans les synthèses, l'entretien cellulaire et le métabolisme énergétique. Dans certaines conditions,

on peut y trouver des granules de réserve. Il n'y a pas d'équivalent du réticulum endoplasmique des cellules eucaryotes. (Singleton, 2008).

II-4-3- Les ribosomes

Les ribosomes sont des corpuscules arrondis minuscules, d'environ 0,025 μ m de diamètre, faits d'ARN (un polymère semblable à l'ADN) et de protéines. Ils constituent les sites de synthèse des protéines et le cytoplasme en contient un grand nombre, (Singleton, 2008).

II-4-4- Les granules de réserve

Mises dans les conditions adéquates, beaucoup de bactéries produisent des polymères qui sont stockés dans le cytoplasme, sous forme de granules. Ces composés contiennent du poly-B-hydroxybutyrate et du polyphosphate, (Singleton, 2008).

II-4-5- Les vacuoles gazeuses

Les vacuoles gazeuses n'apparaissent que chez certains procaryotes (typiquement aquatiques). On les trouve notamment chez les cyanobactéries formatrices de fleurs d'eau (comme *Anabaena flos-aquae*) et chez les archéobactéries (comme *Halobacterium* et *Methanosarcina*). Chaque vacuole consiste en un groupe de petites vésicules allongées, creuses et remplies de gaz. Chaque vésicule est entourée d'une paroi protéique et a communément un diamètre de 60 à 250 nm. Jusqu'à récemment, deux types de protéines seulement avaient été détectés dans les vésicules de *Halobacterium* ; on en a maintenant identifié cinq nouvelles.

Dans certains cas, la formation des vacuoles est constitutive, dans d'autres, elle est inductible, (Singleton, 2008).

II-4-6- Les carboxysomes

Les carboxysomes sont des corpuscules intracellulaires de 100 à 500 nm de diamètre environ, qu'on trouve dans beaucoup de bactéries autotrophes, c'est-à-dire les bactéries capables d'utiliser le dioxyde de carbone pour une grande partie ou pour la totalité de leurs besoins en carbone. Un carboxysome consiste en un sac (ou coquille) membranaire renfermant de nombreuses copies d'une enzyme (RuBisCO) impliquée dans la fixation du dioxyde de carbone atmosphérique, (Singleton, 2008).

II-4-7- Les thylacoïdes

Les thylacoïdes sont des sacs membranaires intracellulaires aplatis, présents dans la plupart des cyanobactéries. Ils se localisent habituellement à proximité de et parallèlement à l'enveloppe cellulaire, mais il semble qu'il s'agisse d'une structure différente de la membrane cytoplasmique. Les membranes des thylacoïdes contiennent des chlorophylles et il s'y effectue de la photosynthèse. Au moins dans certains cas, ce sont aussi des sites d'activité respiratoire.

Des structures semblables aux thylacoïdes (mais appelées chlorosomes ou vésicules de chlorobium) se forment dans les bactéries du sous-ordre des chlorobinées. Elles contiennent certains composants de l'appareil photosynthétique, (Singleton, 2008).

II-4-8- La membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique est constituée d'une double couche de molécules lipidiques de 7 à 8 nm d'épaisseur, dans laquelle des molécules de protéines sont partiellement ou complètement enchiâssées. Certaines de ces protéines s'étendent sur toute l'épaisseur de la membrane. La disposition des molécules de lipides est telle que les faces interne et externe de la membrane sont hydrophiles elles aiment l'eau, tandis que l'intérieur est hydrophobe, (Singleton, 2008).

II-4-9- La paroi cellulaire

Chez la plupart des bactéries, une couche externe solide la paroi cellulaire évite au protoplaste dégâts mécaniques et lyse osmotique. Cette paroi détermine en outre la forme cellulaire : un protoplaste isolé est sphérique, quelque soit la forme de la cellule d'origine. De plus, la paroi cellulaire agit comme un tamis moléculaire, une barrière de perméabilité qui exclut diverses molécules (y compris des antibiotiques). Il ne faudrait cependant pas considérer la paroi cellulaire comme une simple boîte inerte renfermant une cellule vivante : elle joue aussi le rôle actif, par exemple en régulant l'entrée des ions et des molécules dans la cellule, (Singleton, 2008).

II-5- Les tests de différenciation bactérienne

Pour la distinction des bactéries on se refait essentiellement sur les tests qui reposent sur : les caractéristiques morphologiques, biochimiques, et génétiques.

Les tests de différenciations bactériens se résument comme suit :

- Tests sérologiques par exemple ELISA...etc.
- Tests génétique par exemple SSLP, RFLP...etc.
- Tests biochimiques par exemple les systèmes API, l'antibiogramme...etc.

Ce qui nous intéresse pour notre thèse, c'est l'étude de l'antibiogramme et les antibiotiques sur la quel repose la méthode de l'antibiogramme, (Singleton, 2008).

II-6- Les antibiotiques

II-6-1- Définition de l'antibiotique

A l'origine, le mot antibiotique désigne tout produit microbien qui, même à de très faibles concentrations, inhibe ou tue certains micro-organismes. On l'emploie maintenant dans un sens plus large qui inclut, en outre, toute substance synthétique ou semi-synthétique dotée de ces propriétés.

Comme les désinfectants, les antibiotiques peuvent être soit bactéricide, soit bactériostatique et un antibiotique bactéricide à une certaine concentration peut s'avérer bactériostatique à concentration plus faible. Alors la concentration de l'antibiotique s'avère très importante c'est pour quoi les recherches ont met en évidence la CMI et la CMB, (Singleton, 2008).

II-6-2- La CMI

La CMI se définit comme la plus faible concentration d'antibiotique (mg/l) pour laquelle il n'y a pas de croissance visible de la souche bactérienne étudiée, les conditions de culture étant standardisées, (Chardin.H *et al.*, 2006).

II-6-3- La CMB

La CMB est la plus petite concentration d'antibiotique qui ne laisse que 0.01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18h d'incubation à une température de 37°C, Elle caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique, (Chardin *et al.*, 2006).

II-6-4- Critères de Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon:

II-6-4-1- Origine : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique), (Chardin *et al.*, 2006).

II-6-4-2 Mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques, (Chardin *et al.*, 2006).

II-6-4-3 Spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large), (Chardin *et al.*, 2006).

II-6-4-4 Nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse.

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines etc...).

Nous adopterons la classification selon le mode d'action, (Chardin *et al.*, 2006).

II-6-5 Modes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie (Tab II), (Chardin *et al.*, 2006).

Tableau II : Sites d'action des différentes familles d'antibiotiques, (Singleton, 2008).

Site d'action	Famille/Molécule	Action	Effet
Paroi	β-Lactamines : Pénicillines, Céphalosporines	Bactéricide	Inhibition de l'assemblage de peptidoglycane
	Glycopeptide (vancomycine)	Bactéricide	
Ribosome (petite sous- unité)	Aminosides	Bactéricide	Inhibition de la synthèse protéique
	Tétracyclines	Bactériostatique	
Ribosome (grande sous- unité)	Chloramphénicol	Bactériostatique	Inhibition de la synthèse protéique
	Macrolides	Bactériostatique	
	Lincosamides		
ADN	Quinolones	Bactéricide	Inhibition de l'ADN gyrase
	Nitro-imidazolés	Bactéricide	Altération de l'ADN
Voie métabolique	Sulfamides	Bactériostatique	Altération de la voie des folates
	Triméthoprim	Bactéricide	

II-6-6- La synergie et l'antagonisme entre antibiotiques

Si deux antibiotiques, agissant simultanément sur un organisme, produisent un effet qui est supérieur à la somme des effets de chacun d'eux, administré séparément, on dit que ces antibiotiques agissent en synergie. Le cotrimoxazole constitue un exemple de combinaison synergique d'antibiotiques. Un autre exemple est fourni par les composants A et B des streptogramines.

L'antagonisme est le contraire de la synergie. Par exemple, les antibiotiques qui inhibent la croissance (comme le chloramphénicol) sont antagonistes des antibiotiques qui

(comme les B-lactamines) n'agissent que sur les cellules en croissance. Les antibiotiques qui induisent chez les bactéries la production d'enzymes inactivant d'autres antibiotiques offrent un exemple d'une autre forme d'antagonisme. Citons l'antagonisme de l'imipénème et de la céfoxitine vis-à-vis des autres B-lactamine, (Singleton, 2008).

II-6-7- La résistance bactérienne aux antibiotiques

Pourquoi y a-t-il des bactéries qui ne sont pas affectées par certains antibiotiques ! Dans certains cas, une bactérie résiste parce qu'elle est dépourvue de la structure qui constitue la cible de l'antibiotique. Ainsi, les espèces de mycoplasme (qui n'ont pas de paroi cellulaire) ne seront pas sensibles aux pénicillines dont la cible (le peptidoglycane) est un composant de cette paroi. Il se peut que certaines bactéries n'effectuent pas le processus inhibé par l'antibiotique. Les sulfamides n'affecteront pas les organismes qui tirent normalement leur acide folique, tout fait que, du milieu environnant. La résistance peut aussi être due au fait que la cellule empêche l'antibiotique d'atteindre sa cible. Chez beaucoup de bactéries Gram-négatives, la membrane externe est imperméable à certains antibiotiques, et chez les bactéries Gram-positives aussi bien que Gram-négatives, la membrane cytoplasmique peut constituer une barrière, (Singleton, 2008).

II-6-8- Détection de la résistance aux antibiotiques basée sur l'ADN (génotypique)

Pour de nombreux pathogènes, la détermination de la sensibilité aux antibiotiques peut se faire facilement et rapidement par des méthodes traditionnelles tel que l'antibiogramme. Toutefois, ces méthodes n'indiquent pas le mécanisme de résistance à l'antibiotique analysé, mais avec l'aide des méthodes génotypiques, on a pu déterminer toutes les modifications de l'ADN bactérien causé par : un transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre (conjugaison, transformation...) et l'apparition des mutations (délétions, substitution, addition des bases). Ces deux phénomènes sont alors à l'origine d'un gain ou d'une perte de caractère bactérien, dont la résistance à l'antibiotique, (Singleton, 2008).

II-6-9- L'effet post-antibiotique

L'expression effet post-antibiotique désigne la suppression de la croissance bactérienne (habituellement pendant de nombreuses heures) qui suit une courte exposition à certains agents antimicrobiens, donc les aminoglycosides, les B-lactamines, les 4-quinolones, les macrolides et les streptogramines. Cet effet est un facteur à prendre en considération pour décider de la dose et de la fréquence d'administration de ces antibiotiques. Cliniquement,

L'effet post-antibiotique est avantageux lorsqu'il s'agit de faibles concentrations d'antibiotique administrées de façon intermittente. Un autre avantage réside dans le fait que les bactéries peuvent être éliminées plus facilement par le système immunitaire, pendant cette période ou elles ne croissent pas.

Des études effectuées sur diverses bactéries et divers antibiotiques suggèrent que l'effet post-antibiotique fait intervenir toute une série de mécanisme, (Singleton, 2008).

II-7- L'antibiogramme

L'antibiogramme est la méthode analytique qui permet de définir *in vitro* l'antibiotique le plus actif sur un germe, donc celui qui a le plus de chance de guérir le malade infecté par ce germe.

Elle doit tenir compte d'un certain nombre de facteurs susceptibles de modifier l'antibiogramme. ces facteurs sont propres à l'antibiogramme, à ses propriétés, au milieu et à la bactérie, (Chardin *et al.*, 2006).

II-7-1- Les différentes méthodes de l'antibiogramme

II-7-1-1 La méthode de diffusion

La méthode de diffusion ou des disques en milieu solide est la plus simple. Elle consiste à ensemencer en surface d'un milieu solide par inondation de la souche à tester. Puis à déposer des disques de papier buvard comprenant un antibiotique à une certaine concentration. Après incubation pendant 24 heures à 37 °C. Des zones d'inhibition à proximité de chaque disque sont observées. Il est possible de calculer la CMI de l'antibiotique en reportant le diamètre de la zone sur une courbe de concordance, pré-etablie à l'avance avec une centaine de souches de sensibilités différentes, (Fig 02), (Kamagat *et al.*, 2001).

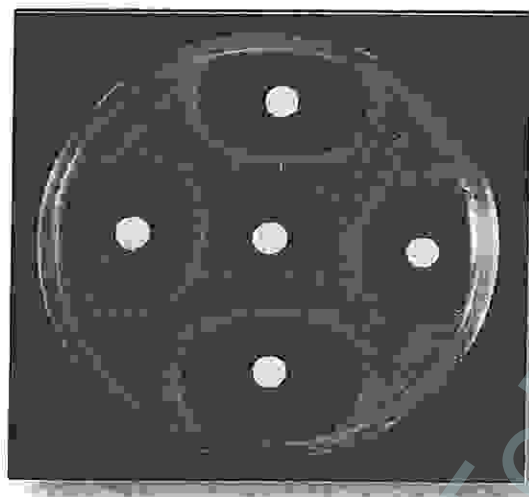


Figure 02: schéma représentatif d'un antibiogramme par la méthode de diffusion (2).

II-7-1-2 La méthode de dilution

La méthode de dilution consiste à préparer dans une série de tubes d'une gamme de concentration d'antibiotique à tester, (par exemple 0.5 mg/l, 1, 2, 4, 8, 16) puis addition d'une même quantité de gamme à tester. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, la détermination de la plus faible concentration d'antibiotique inhibant la croissance bactérienne visible à l'œil nu, (Fig 03), (Kamagat *et al.*, 2001)

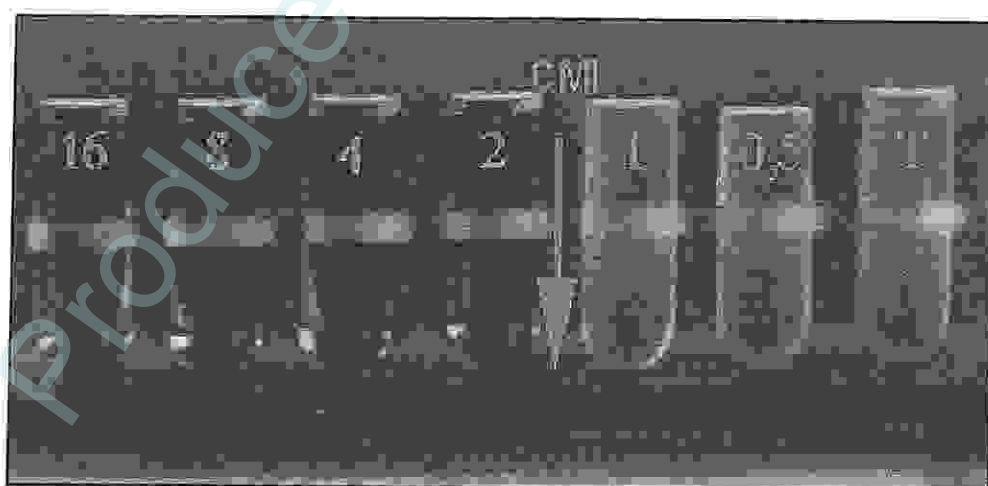


Figure 03 : schéma représentatif des dilutions de la méthode de dilution (3).

II-7-1-3 La bandelette E-test

Un gradient de concentration d'antibiotique est obtenu dans une bandelette plastifiée. Après dépôt de la bandelette à la surface d'une boîte de pétri ensemencé par la suspension de la bactérie à tester puis après une incubation pendant 24 heures à 37 °C, la valeur de la CMI est lue au niveau de l'intersection, (Fig04), (Kamagat *et al.*, 2001).

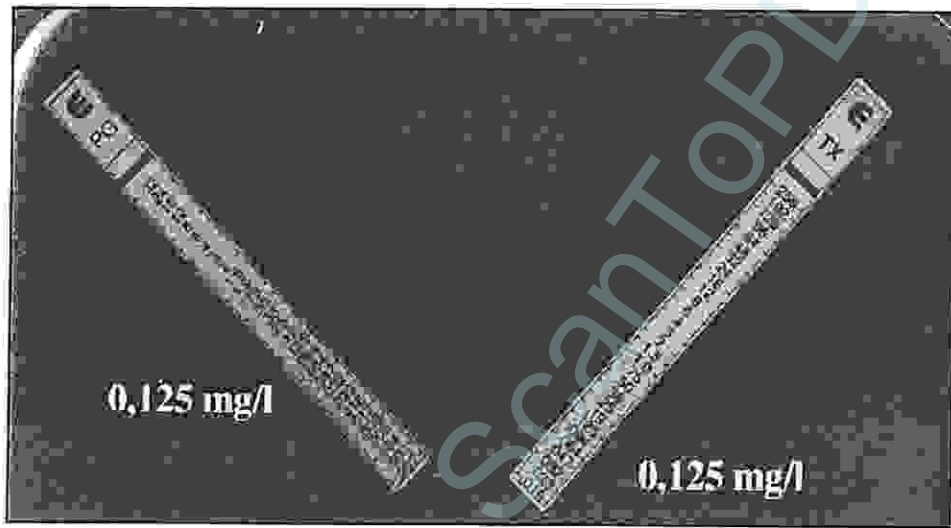


Figure 04 : schéma représentatif du E test (4).

Partie II :
Expérimentale

Produced with ScantOPDF

I-Matériel

I-1- Matériel végétale

Nos analyses portes sur les racines de gingembre, clou de girofles achetés de chez herboriste dans des sachets de plastique fermés ainsi que l'ail le zeste de pamplemousse.

L'authentification de ces plantes est réalisée par le laboratoire de botanique de l'université de Guelma. Ces plantes sont utilisées traditionnellement dans le traitement des infections microbiennes.

I-1-1- Gingembre

Nom vulgaire : Gingembre

Nom scientifique : *Zingiber officinale*

Famille : Zingiberaceae

Description de la plante

C'est une plante rhizomateuse portant deux sortes de tiges aérienne. Les cimes stériles présentent des feuilles engainantes et lancéolées, les autres fertiles et courtes portent des bractées engainantes surmontées d'un épi dense de fleurs verdâtres. Le rhizome charnu se détache facilement. C'est la seule partie utilisée en médecine traditionnelle.

Originnaire de l'Inde et de la Malaisie, le gingembre est cultivé dans les lieux humides à proximité des villages. Le rhizome de gingembre est utilisé comme accélérateur de la digestion, comme cholagogue, antitussif... etc.

Une préparation fabriquée en mélangeant la poudre de rhizome, du sucre et l'eau possède une réputation rafraichissante, stimulante et aphrodisiaque,(Fig 05), (Pousset, 2004).



Figure 05 : Racines de gingembre (5)

I-1-2- Clou de girofle

Nom vulgaire : Clou de girofle

Nom scientifique : *Eugenia Caryophyllata*

Famille : Myrtacées

Description de la plante

Le clou de girofle provient du giroflier, grand arbre élégant poussant au sein d'un climat tropical marin. C'est un bouton floral récolté avant maturité, c'est à dire juste avant l'épanouissement de la fleur, qui est ensuite séché au soleil, ce qui lui donne cet aspect brûlé.

Ses propriétés sont multiples : antiseptique, anesthésiant, antibactérien...etc. Il est, dès l'Antiquité, employé par les Chinois pour ses vertus médicinales. Au Moyen Age, les Occidentaux s'en servaient pour la conservation des aliments.

Au XIXe siècle, le clou de girofle a fait la fortune de *Zanzibar*. Aujourd'hui, *Zanzibar* assure encore la plus grande partie de la production mondiale, (Fig 06), (Pousset, 2004).



Figure 06 : Clou de girofle (6).

I-1-3 Ail

Nom vulgaire : ail

Nom scientifique : *Allium sativum*

Famille : liliacées

Description de la plante

L'ail est une plante vivace bulbeuse. Fleurs rosées pale ou vert blanchâtre (entre 30 cm et 1 m). Originare d'Asie centrale, l'ail pousse partout il est cultivé en divisant le bulbe à partir de mai dans les régions plus chaudes, la plantation peut se faire jusqu'en automne.

L'ail est la plante médicinale par excellence. Il est sans danger pour un usage domestique et se révèle efficace pour traiter une multitude de problèmes de santé il combat les infections du nez, de la gorge et des bronches, réduit le taux de cholestérol et apaise les troubles circulatoires, comme l'hypertension. Hypoglycémiant, l'ail est un précieux complément alimentaire pour les diabétiques, (Fig 07), (Larousse encyclopédie, 2001).

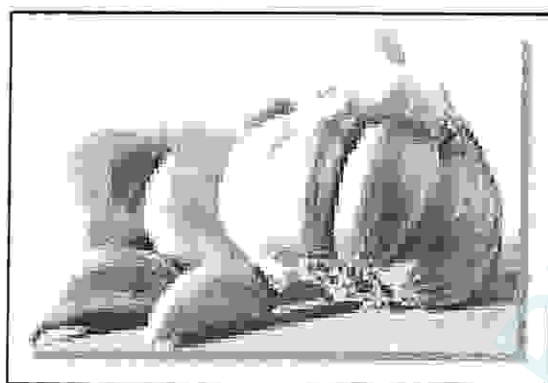


Figure 07 : ail (7).

I-1-4- Pamplemousse

Nom vulgaire : Pamplemousse.

Nom scientifique : *Citrus grandis*.

Famille : Rutacées.

Description de la plante

Le pamplemoussier est un grand agrume, qu'il s'agisse de la taille de l'arbre, des feuilles, des fleurs ou du fruit, pouvant mesurer plus de 20cm de diamètre. C'est un arbre originaire de l'Asie du Sud-est, qui est relativement répandu dans les pays tropicaux. Il ne faut pas le confondre avec son hybride, *Citrus paradisi*, le pomelo, qui lui est beaucoup plus répandu sur les étals de fruits d'Europe. Le pamplemoussier, bien que nécessitant de pousser en zone tropicale pour offrir des fruits de bonne qualité gustative, peut toutefois résister à des températures de l'ordre de -6°C à -8°C , ce qui en fait un agrume relativement résistant, pouvant être essayé en région douce, dans un endroit abrité et bien exposé. Le pamplemoussier requiert un sol bien drainé.

Les fleurs sont également très grandes pour des fleurs d'agrumes, et fortement parfumées.

Le pamplemousse peut mesurer jusqu'à 20cm de diamètre, et pèse facilement plusieurs kg. Le fruit est arrondi, soit aplati soit en forme de poire. Il ne faut pas le confondre avec le pomelo, que l'on trouve beaucoup plus fréquemment sur les étals de fruits. Le pamplemousse

reste un fruit qui, pour être consommable frais, doit être cultivé en zone tropicale, (Fig 08) (Shaddock, 2009).



Figure 08 : pamplemousse (8).

I-4- Les bactéries

Cinq espèces bactériennes ont été isolées et identifiées par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital Ben Zohr de Guelma. Elles proviennent de prélèvements pathologiques effectués sur des malades. Ces sont, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Kleibseilla pneumonie*, *Escherichia coli* et *salmonella typhimerium*.

I-2-1- *Staphylococcus aureus*

- **Habitat**

C'est un germe ubiquitaire, retrouvé dans le sol, l'air. C'est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme.

On le trouve à l'état normal dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles au niveau du Périnée ou des aisselles, (Boudjema *et al.*, 2010).

- **Caractères principaux**

Cocci à Gram positif, immobile, pigmenté à jaune, non sporulé en amas (grappes de raisin), G+C: 30-39%, température optimal à 37°C, PH optimal: 7.2-7.4, NaCl: 7.5%, Anaérobie facultatif, oxydase+, catalase+, (Boudjemaa *et al.*, 2010).

- **Pouvoir pathogène**

Les manifestations dues au *Staphylococcus aureus* sont très nombreuses, elles sont suppurations, nécrotiques ou entériques:

-Les suppurations localisées.

- Les manifestations digestives.

-Le syndrome de choc toxique, (Boudjemaa *et al.*, 2010).

- **Sensibilité aux antibiotiques:**

Les souches communautaires sont généralement résistantes aux pénicillines G et A, mais sensibles aux pénicillines M. Elles sont souvent sensibles aux macrolides, aux synergistines, aux fluoroquinolones, (Boudjemaa *et al.*, 2010).

1-2-2- *Escherichia coli* (collbacille)

Bacille à Gram négatif apparentant à la famille des Entérobactérie. *E. coli* se développe sur gélose ordinaire. Indole⁺, urée-fermente le lactose, gazogène, mais ne produit pas d'acétine, (Boudjemaa *et al.*, 2010).

- **Habitat**

E. coli est une hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux. Chez l'homme, il est présent à raison de 10 à 100 bactéries /g de selles, densité cependant très inférieure à celle des anaérobies qui constituent la flore dominante. La présence d'*E. coli* dans l'environnement est le témoin d'une contamination fécale. Pouvoir pathogène, (Boudjemaa *et al.*, 2010).

- **Infection urinaire**

Plus fréquent chez la femme en raison de la brièveté, chez l'homme l'infection est généralement secondaire à un obstacle sur les voies urinaires, (Boudjemaa *et al.*, 2010).

- **Infection intestinal**

Responsable de gastro-entérites, (Boudjemaa *et al.*, 2010).

- **Infection néonatale**

Peut se traduire par une méningite ou une septicémie, (Boudjemaa *et al.*, 2010).

- **Infection diverses**

Escherichia coli est impliqué dans de nombreuses infections à point de départ digestif ou urinaire, suppuration localisée, il peut s'agir d'infections communautaires ou nosocomiales, (Boudjemaa *et al.*, 2010).

- **Sensibilité aux antibiotiques**

La bactérie était initialement sensible à beaucoup d'antibiotiques, mais l'acquisition de résistance est fréquente, surtout en milieu hospitalier. Cependant la résistance aux aminos et aux carboxipénicillines par production de pénicillinase défasse 40 des souches, une partie de ces souches résistent à l'association amoxicilline-acide clavulainique pour les autres antibiotiques, les fréquences de résistance sont faibles à l'exception des sulfamides (50%), et tétracyclines (40 %) et du chloromphimcol (25%), (Boudjemaa *et al.*, 2010).

I-2-3- *Pseudomonas aeruginosa*

- **Habitat**

C'est une bactérie rependue dans la nature. Elle vit dans l'eau et sur le sol, on la trouve aussi dans l'environnement hospitalier, surtout dans les endroits humides de lavabos, savons liquides, humidificateur, solution d'antiseptiques (chlorhexidine chlorure de benzalkonium, cétrimide notamment). *Pseudomonas aeruginosa* se trouve dans le tube digestif et plus rarement dans la saline, (Boudjemaa *et al.*, 2010).

- **Caractères principaux**

Bacille Gram négatif, mobile à ciliature polaire mono triche, caractérisé par la pigmentation bleu-vert, sporule, température optimale: 30 à 43°C, pH optimal 6,5-8, aérobic strict, chimioorganotrophe, oxydas+, catalase+, gaz-, LDC-, ODC-, ADH+, gélatine+, psychrotrophe, (Boudjema *et al.*, 2010).

- **Pouvoir pathogène**

La bactérie peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques. Responsable d'infections cutanées, (impétigo, furoncles), d'infection de la sphère ORL (sinusites, otites...) et d'infection divers, (Boudjema *et al.*, 2010).

- **Sensibilité aux antibiotiques**

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie généralement multi résistante, les antibiotiques pouvant avoir une bonne activité sont: la ticarcilline, la pipéracilline, l'azolocilline, la ceftazidime, la cefuslodime, le cefépime, l'imipénème et les aminosides.

Les souches résistantes à la colistine sont très rares. La ciprofloxacine est la plus active des quinolones. L'activité de tous ces antibiotiques n'est pas régulière et doit toujours être précisée par antibiogramme, (Boudjema *et al.*, 2010).

I-2-4- *Salmonella typhimurium*

- **Habitat**

Salmonella typhimurium peut survivre plusieurs semaines en milieu sec et plusieurs mois dans l'eau. Elle se retrouve donc fréquemment dans les milieux aquatiques pollués, la contamination par les excréments d'animaux porteurs étant très importante. Les vertébrés aquatiques, notamment les oiseaux (Anatidés) et les reptiles (Chéloniens) sont d'importants vecteurs de salmonelles, (Boudjema *et al.*, 2010).

- **Pouvoir pathogène**

Salmonella typhimurium responsable de la fièvre typhoïde chez l'homme, (Boudjema et al., 2010).

- **Sensibilité aux antibiotiques**

Salmonella typhimurium était résistante aux antibiotiques (ampicilline, chloramphenicol, streptomycine, sulfonamides et tétracycline), (Boudjema et al., 2010).

I-2-5- *Kleibseilla pneumonie*

- **Habitat**

Ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des Hommes et des animaux en tant que bactéries commensales. Elles sont fréquentes dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale. Elles sont abondantes dans le sol, les eaux et sont des fixateurs de l'azote atmosphérique, (Fig 13) (Boudjema et al., 2010).

- **Pouvoir pathogène**

Kleibseilla pneumonie détermine des infections respiratoires (pneumonies, abcès pulmonaires, pleurésies), des infections intestinales et urinaires. Elle a un effet cytotoxique sur les épithéliums des voies aériennes et peut être responsable d'infections nosocomiales, (Boudjema et al., 2010).

- **Sensibilité aux antibiotiques**

Kleibseilla pneumonie est sensible aux antibiotiques suivants : cilastatine et imipenème, (Boudjema et al., 2010).

II- Méthodes

II-1- Obtention des extraits aqueux totaux de clou de girofle et les racines de gingembre

Selón le protocole d'extraction décrit par De souza *et al.*, 1995. Nous avons broyé 20g de clou de girofle et 20g de racines de gingembre à l'aide d'un mortier en porcelaine jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, (Fig 09).

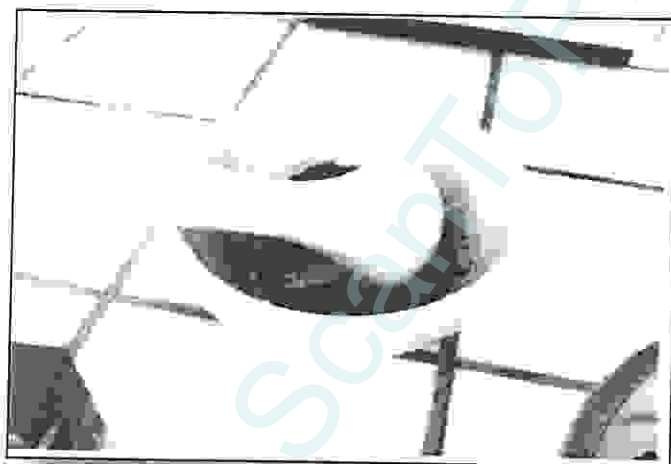


Figure 09 : broyage en mortier en porcelaine.

Les deux poudres obtenues sont mis, dans deux béchers contenant 400ml d'eau physiologique et agitées à température ambiante pendant 24 heures, (Fig 10).



Figure 10 : agitation pendant 24 h.

Les solutions sont filtrés successivement sur du coton hydrophile et sur du papier de wattman N° 01. Les filtrats sont stérilisés sous vide à l'aide d'une membrane millipore de 0.45 μm .



Figure 11 : Extraits aqueux de gingembre et clou de girofle.

Les extraits aqueux stériles ainsi obtenus sont conservés dans des flacons stériles dans un réfrigérateur à 4 °C pour les essais antibactériens.

II-2- Obtention des extraits du zeste de pamplemousse

En suivant le protocole d'extraction par l'expression à froid décrit Zahalka, 2009, nous avons obtenu l'essence de pamplemousse contenant dans les zestes.

Dans un premier temps nous avons frotté le fruit manuellement sur les parois garnies de picots d'une écuelle de bois. L'essence ainsi exprimé était recueilli à l'aide d'une éponge.

Ensuite L'essence soigneusement filtrée à l'aide d'un entonnoir sur un papier de filtre. Le filtrat est collecté dans un flacon stérile et conservé au réfrigérateur à une température égale 4 °C pour les essais antibactériens, (Zahalka, 2009).

II-3- Obtention des extraits de gingembre et de clou de girofle par la méthode des solvants successifs

Cette technique est décrite par Konkon *et al.*, 2006, cependant nous avons appelés des modifications dans notre protocole, modification qui consiste à utiliser de l'eau en plus des deux solvants (chloroforme et méthanol).

On a introduit 20 g de poudre de plante séchée dans un erlenmeyer de 500 additionné de 45 ml de chloroforme et 15 ml d'eau distillée, suivi d'une agitation pendant 15 min puis on passe la solution dans un filtre. Cette opération est répétée deux fois de suite. Puis on a réuni les trois filtrats.

Le marc préalablement séché est introduit dans un erlenmeyer de 500 ml en lui ajoutant 45 ml de méthanol et 15 ml d'eau distillée, on agite le mélange pendant 15 min, ensuite on filtre la solution. Cette opération est répétée deux fois, pour réunir à la fin les filtrats.

Pour éliminer l'alcool de nos deux filtrats on passe le mélange au rota-vapeur, avec une évaporation sous vide à 45°C pendant une durée de 15 min, notre alcool mélangé aux filtrats est totalement séché; (Fig 12). Par contre les espèces solubles dans l'alcool et non volatile restent dans l'eau qui, lui est très persistant à l'évaporation, cette eau est ensuite récupérée dans des tubes stérile et conservé au réfrigérateur à une température égale 4° C pour les essais antibactériens.

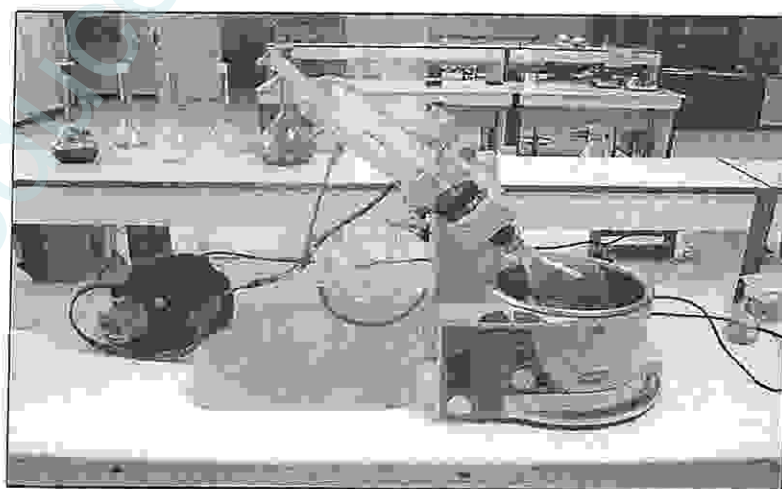


Figure 12 : Rota-vapeur.

II-4- Obtention d'extrait de l'ail

Suivant le protocole décrit par Messiaem, 1993. Après avoir pelé et presser 10 gousses d'ail, soit l'équivalent de 10g. On a fait passer le contenu mélangé à de l'eau distillée stérile sous un mixeur. A l'aide d'une étamine stérile on a procédé à la séparation des fibres et des tissus végétales du broyat de notre extrait. Enfin on verse notre extrait dans un flacon, le bien fermer et le conserver dans un réfrigérateur à 4 °C pour éviter toute action enzymatique.

II-5- Préparation de l'inoculum

Des colonies bien séparées des espèces bactériennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisée dans 10 ml de bouillon nutritif puis portées à l'incubation sous agitation pendant 24 heures à 37 °C.

II-6- Préparation des disques

Des disques de papier de wattman N° 01 de 6 mm de diamètre, stériles (stérilisation à 120°C pendant 15 minutes à l'autoclave) seront imbibés par l'extrait naturel à tester, des disques imprégnés d'eau distillée stérile seront également utilisés comme témoin négatif.

II-7- Test de sensibilité

Selon le protocole expérimentale décrit par Kamagat *et al.*, 2001.

- Couler la gélose Muller Hinton dans des boîtes de pétrie.
- Laisse la gélose solidifiée.
- Ensemencer par la méthode d'inondation les différentes batteries à tester.
- Déposer des disques imbibés par les extraits des plantes suivants : l'extrait aqueux de clou de girofle, l'extrait aqueux de gingembre, l'extrait de clou de girofle par méthanol, l'extrait de gingembre par méthanol, l'extrait de clou de girofle par chloroforme, l'extrait de gingembre par chloroforme, extrait de l'ail et l'extrait de zeste de pamplemousse.
- Déposer dans les mêmes boîtes les antibiotiques suivants : Erythromycine 15 µg, Oxacycline 01µg, Pipracycline 100µg, Netilmycine 30 µg, Doxa cycline 30µg, Tobramycine10µg, Rifampicine 5 µg.



Figure 13 : technique de l'antibiogramme.

Les antibiotiques sont choisis en raison de leur spectre d'action assez large et de leurs utilisations fréquentes en milieu hospitalier pour le traitement des infections causées par les germes choisis dans cette étude.

-Les boîtes de pétri incubées à 37°C pendant 24 heures.

Résultats et discussions

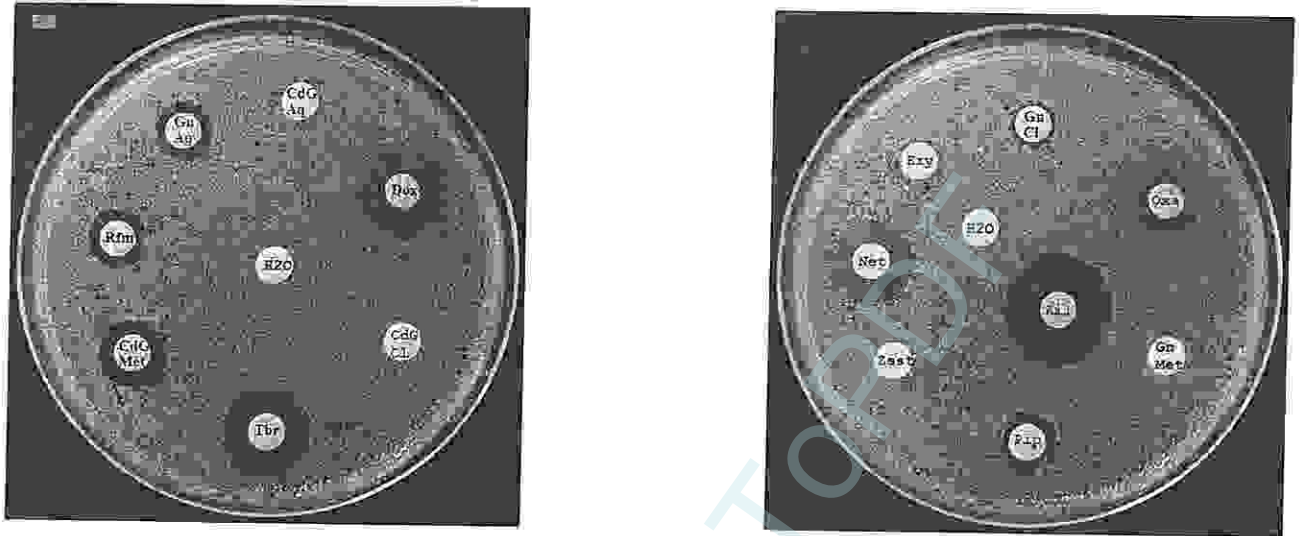
Produced with Scantopdf

C'est avec l'application du principe de l'antibiogramme que nous avons testé le comportement des différentes espèces bactériennes vis-à-vis des extraits de plantes et des Antibiotiques qui ont fait l'objet de cette Etude.

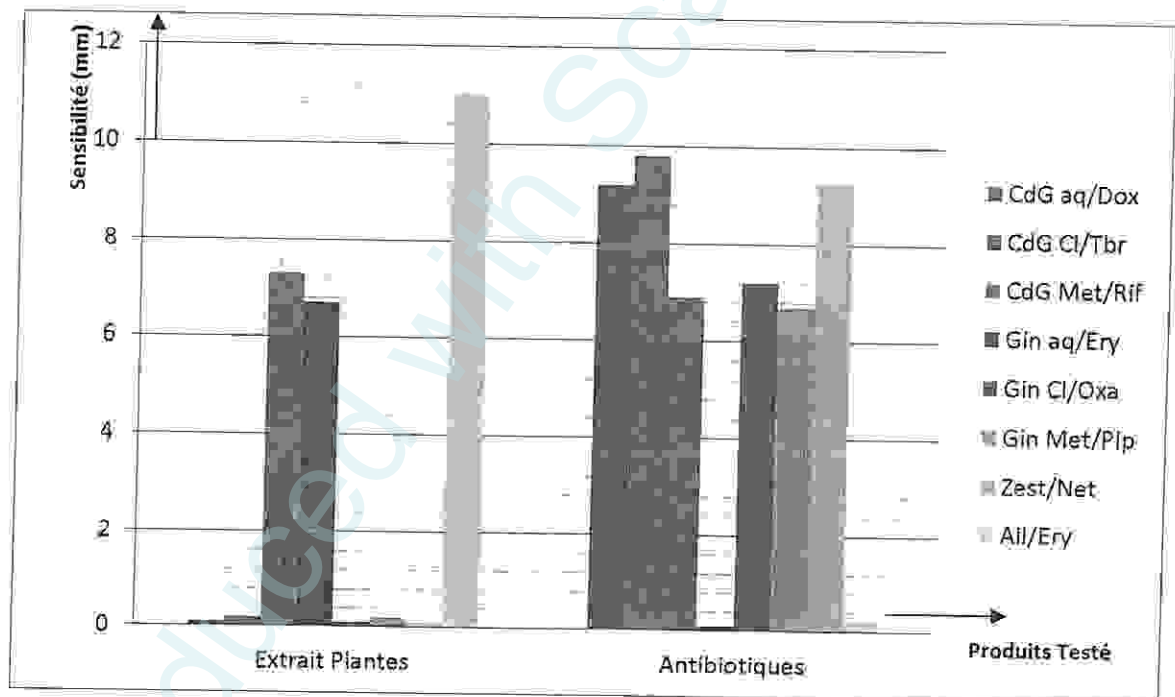
III-1-Comportement d'*E. coli* : cette Bactérie souvent incriminée dans plusieurs types d'infections présente souvent une sensibilité vis-à-vis de la plus part des antibiotiques surtout la famille de la B-lactamine, a présentée une résistance à l'ensemble des extraits testés à l'exception des Extrait de Clou de Girofle Méthanol et Gingembre Aqueux qui ont donnés un résultat (Intermédiaire) et une forte sensibilité vis-à-vis de l'ail (Tab III, Fig.14 a et b)

Tableau III : Résultats avec *E. coli*

Les extraits des plantes	Résultats du test	Les antibiotiques	Résultats du test
Extrait de Clou de girofle aqueux	Résistante	Doxacycline	Sensible
Extrait de Clou de girofle par chloroforme	Résistante	Tobramycine	Sensible
Extrait de Clou de girofle par méthanol	Intermédiaire	Rifampicine	Intermédiaire
Extrait de Gingembre aqueux	Intermédiaire	Erythromycine	Résistante
Extrait de Gingembre par chloroforme	Résistante	Oxacyline	Intermédiaire
Extrait de Gingembre par méthanol	Résistante	Pipracycline	Intermédiaire
Extrait de Zestes de pamplemousse	Résistante	Netilmycine	Sensible
Extrait de l'Ail	Sensible	Erythromycine	Résistant



(a)



(b)

Figure 14 : Résultats de l'antibiogramme(a) et présentation graphique(b) des tests sur *E. coli*

Les Résultats montrent clairement que la bactérie *E. Coli* a exprimée une sensibilité intermédiaire avec l'extrait de clou girofle méthanol (CdG Met) et avec l'extrait de gingembre aqueux (Gn Aq), dont les auréoles d'inhibitions sont respectivement de l'ordre de (7.3mm et 6.8mm) cette même bactérie c'est avérée extrêmement sensible vis-à-vis de l'extrait de l'ail qui a donné une auréole d'inhibition de 11mm de diamètre.

Ces résultats sont en proches des observations obtenus de Sriyastava et *Coll.* (1995), qui démontrent que l'extrait de l'ail a un pouvoir inhibiteur sur plusieurs bactéries y compris *E. coli*.

Les travaux de Smith-Palmer et coll., (1998) ; Ouattara et coll., (1997) ; Nascimento et coll., (2000) ; Rhayour et coll., (2003) Burt et Reinders ,(2003) portant sur les effets antibactériens de certains huiles essentielles ont observés que le clou girofle a une activité antibactérienne importante sur de nombreuse bactéries dont *E. Coli* .

Les études réalisées par Malu et *Coll.* (2008) sur les activités antibactériennes et les propriétés médicinales du gingembre, montrent la sensibilité de plusieurs bactéries y compris *E. coli*, envers l'extrait de cette plante.

En ce qui concerne les antibiotiques, la totalité ont un effet antibactérien contre *E.coli* avec des diamètres qui varient entre 6.8 et 9.8mm à l'exception de l'erythromycine qui n'a aucun effet sur cette bactérie.

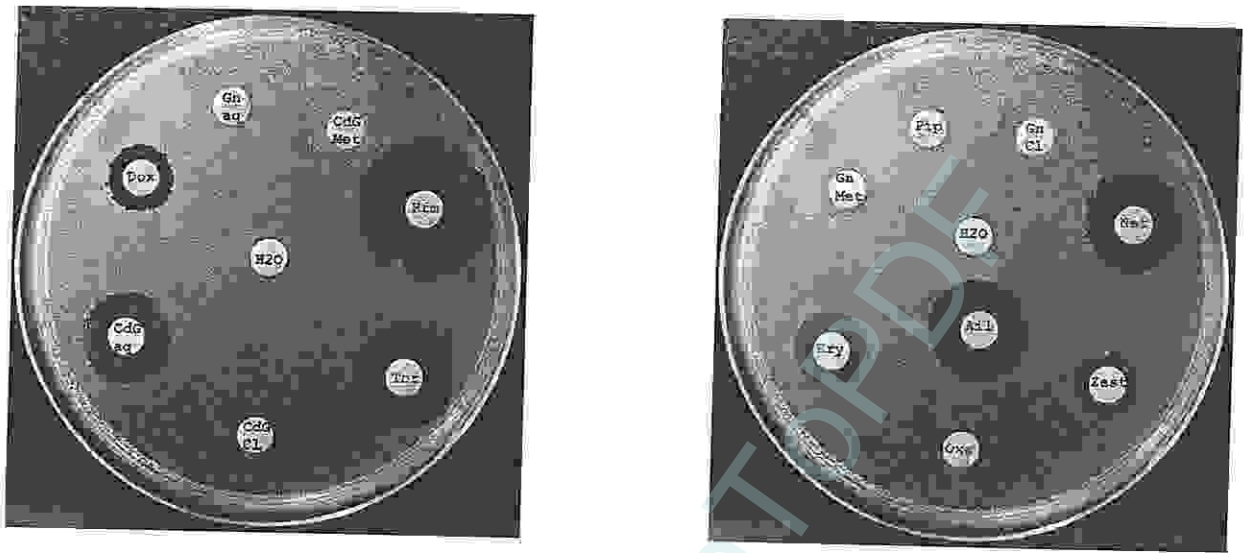
A titre comparatif avec nos extraits, on constate que CdG met et Gn Aq ont un effet semblable à la Pipracycline et l'Oxacyline, alors que l'ail donne un effet antibactérien élevé semblable à celui de Netilmycine et de Tobramycine.

III-2- Comportement de *salmonella typhimerium* : *C* est une bactérie naturellement présente dans l'intestin des animaux (en particulier chez les volailles et les porcs) elle est souvent montrée du doit lors des intoxications alimentaires, responsable entre autre de la salmonellose, une toxi-infection très répandue chez les enfants et les personnes âgées, cependant elle montre une sensibilité envers l'amoxicilline, antibiotique appartenant à la famille des pénicillines à spectre élargi.

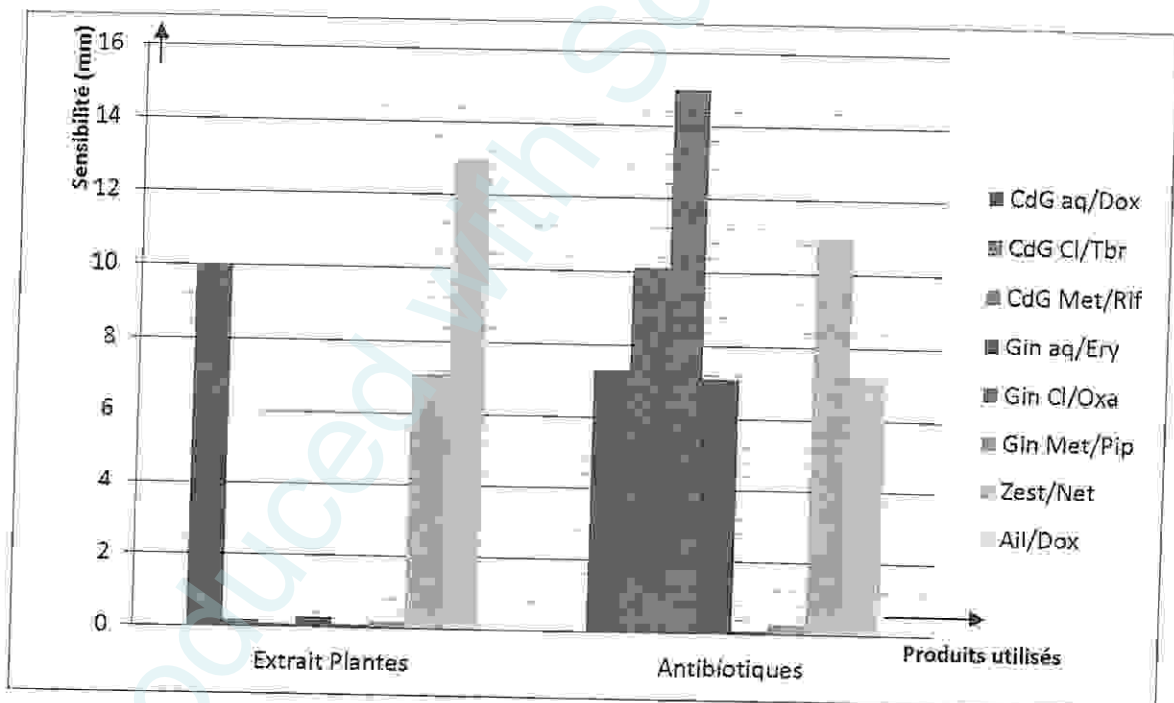
Cette bactérie a montrée une résistance vis-à-vis de tous les extraits utilisés à l'exception de l'extrait de zeste de pamplemousse (intermédiaire) et une forte sensibilité avec l'extrait de clou de girofle aqueux et de l'ail (Sensible). (Tab IV, Fig. 15a et b).

Tableau IV : Résultats avec *salmonella typhimerium*

Les extraits des plantes	La sensibilité aux extraits	Les antibiotiques	La sensibilité aux antibiotiques
Extrait de Clou de girofle aqueux	Sensible	Doxacycline	Intermédiaire
Extrait de Clou de girofle par chloroforme	Résistante	Tobramycine	Sensible
Extrait de Clou de girofle par méthanol	Résistante	Rifampicine	Sensible
Extrait de Gingembre aqueux	Résistante	Erythromycine	Intermédiaire
Extrait de Gingembre par chloroforme	Résistante	Oxacyline	Résistante
Extrait de Gingembre par méthanol	Résistante	Pipracycline	Résistante
Extrait de Zestes de pamplemousse	Intermédiaire	Netilmycine	Sensible
Extrait de l'Ail	Sensible	Doxacycline	Intermédiaire



(a)



(B)

Figure 15 : Résultats de l'antibiogramme(a) et présentation graphique(b) des tests sur *salmonella typhimurium*

D'après les données obtenues nous avons constaté une activité antibactérienne largement évidente de l'extrait de l'ail avec cette bactérie qui a donné une auréole d'inhibition de (13mm), et avec le CdG Aq un diamètre d'inhibition de 10mm, cependant cette même

bactérie c'est révélé un peut moins sensible vis-à-vis du l'extrait du zeste de pamplemousse (sensibilité intermédiaire) avec un diamètre d'inhibition de 7.3mm.

Les travaux de Smith-Palmer et coll., (1998) ; Ouattara et coll., (1997) ; Nascimento et coll., (2000) ; Rhayour et coll., (2003) Burt et Reinders ,(2003) ont montrés une activité antibactérienne du Clou de girofle contre de nombreuse souches bactériennes y compris *salmonella typhimerium* .

Les observations de Mahmoud, (1994) ; Tampieri et coll., (2004) ont portées sur l'extrait d'ail pour trouver une substitution des antibiotiques pour les volailles et les oiseaux de compagnies ont clairement montrées le pouvoir antibactérien de l'ail contre *salmonella typhimerium*.

Les travaux de Bae et coll, (1999), Blankson et coll, (2000), Heggens et coll, (2002), Reagor et al, (2002), portées sur le pouvoir inhibiteur de la croissance bactérienne des bioflavonoïdes trouvé dans la pamplemousse, ont observés une sensibilité de plusieurs bactéries et virus y compris de *salmonella typhimerium*.

En ce qui concerne les antibiotiques la totalité ont donné un effet antibactérien avec des diamètres qui varient entre (7.2 – 14.9mm) à l'exception de l'Oxacyline et Pipracycline qui n'ont aucun effet.

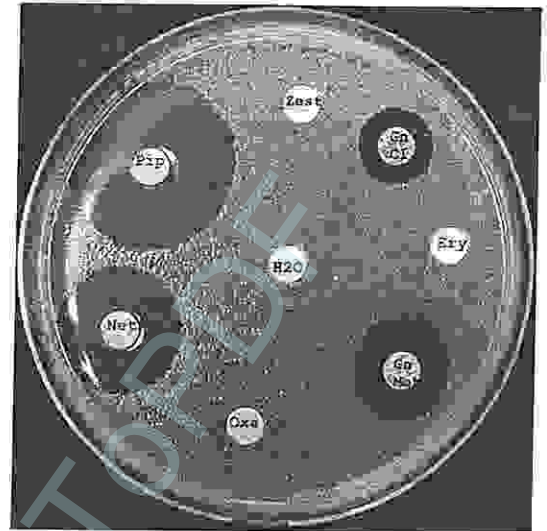
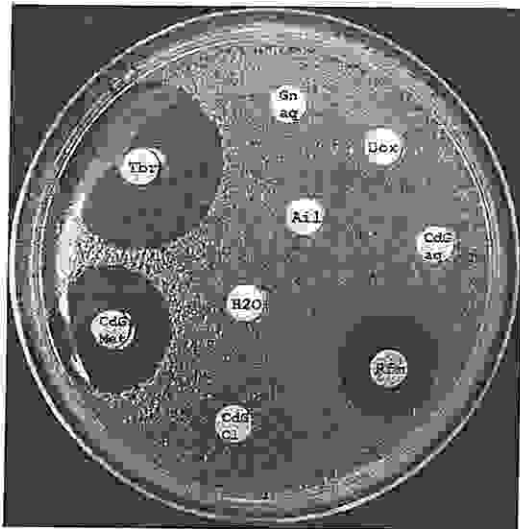
En comparant ces résultats avec ceux obtenus avec nos extraits, le zest a un effet antibactérien similaire à la Doxacycline et Erythromycine en plus le CdG Aq et l'ail ont un effet élevé comparable à Rifampicine, Netilmycine, Tobramycine.

III-3-Comportement de *Pseudomonas aeruginosa*: Bactérie impliquée dans de nombreuses maladies nosocomiales et des infections de l'appareil respiratoire supérieur ainsi de l'oreille externe et la peau, Relativement sensible à la Pipéracilline et à la famille des Aminosides.

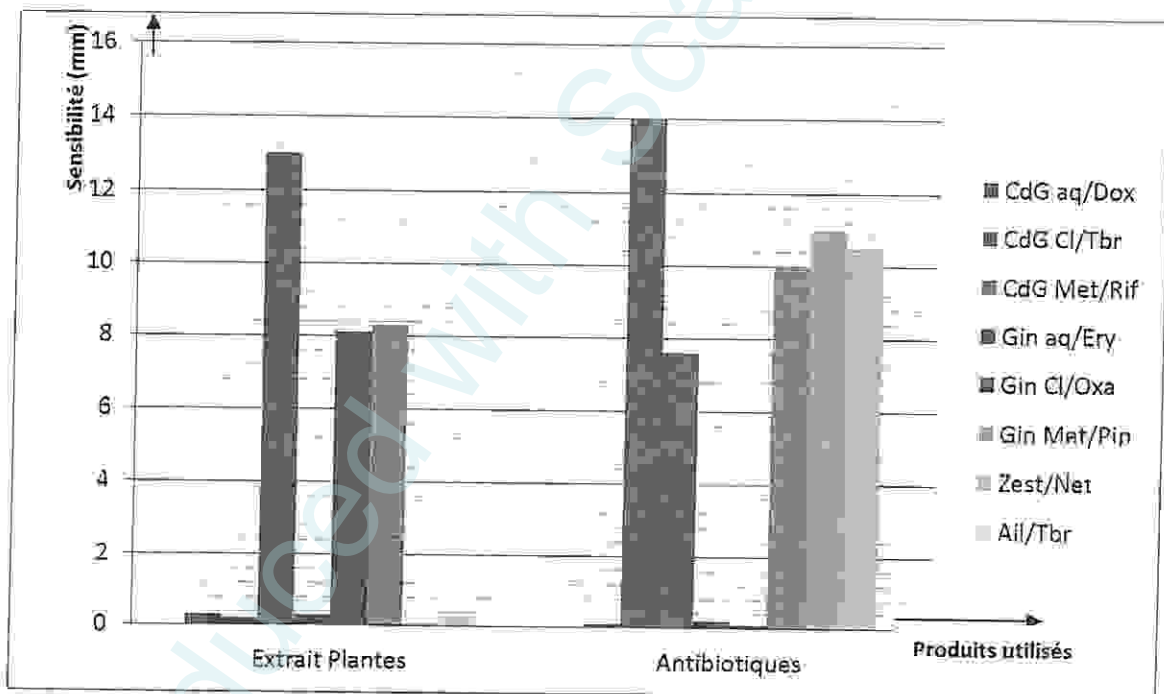
Cette bactérie a présenté une résistance à la quasi totalité des extraits utilisés mais elle c'est révélée sensible vis-à-vis de l'extrait clou de girofle méthanol et une sensibilité intermédiaire avec l'extrait gingembre chloroforme, et gingembre méthanol (Tab V, Fig. 16a et b).

Tableau V : Résultats avec *Pseudomonas aeruginosa*

Les extraits des plantes	La sensibilité aux extraits	Les antibiotiques	La sensibilité aux antibiotiques
Extrait de Clou de girofle aqueux	Résistante	Doxacycline	Résistante
Extrait de Clou de girofle par chloroforme	Résistante	Tobramycine	Sensible
Extrait de Clou de girofle par méthanol	Sensible	Rifampicine	Intermédiaire
Extrait de Gingembre aqueux	Résistante	Erythromycine	Résistante
Extrait de Gingembre par chloroforme	Intermédiaire	Oxacyline	Résistante
Extrait de Gingembre par méthanol	Intermédiaire	Pipracycline	Sensible
Extrait de Zestes de pamplemousse	Résistante	Netilmycine	Sensible
Extrait de l'Ail	Résistante	Tobramycine	Sensible



(a)



(B)

Figure 16 : Résultats de l'antibiogramme(a) et présentation graphique(b) des testes sur *Pseudomonas aeruginosa*

Les résultats obtenus témoignent d'une sensibilité relativement importante (intermédiaire) avec l'extrait de Gn Cl et l'extrait de Gn Met qui ont donné respectivement des auroles d'inhibition de l'ordre de 8,1 mm et 8,3 de diamètre, par contre la bactérie a montrée une forte sensibilité avec l'extrait de CdG Met, qui a donné un diamètre d'inhibition de 13 mm.

Des travaux mener par Ouattara et coll., (1997) ; Nascimento et coll., (2000) ; Rhayour et coll., (2003) Burt et Reinders, (2003) montrant l'activité antimicrobienne du Clou de girofle vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* on utilisant la technique de Disc diffusion essay.

Les résultats d'Oneagba et coll., (2004) ont démontrés l'activité antibactérienne de l'extrait de gingembre par la méthode de diffusion de Kirby Bauer sur plusieurs bactéries pathogènes et virus, y compris *Pseudomonas aeruginosa*

En ce qui concerne les antibiotiques, la majorité ont un fort effet antibactérien contre *Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres qui varient entre (7.6 – 14mm) par contre la Doxacycline, Erythromycine et Oxacyline qui n'ont aucun effet.

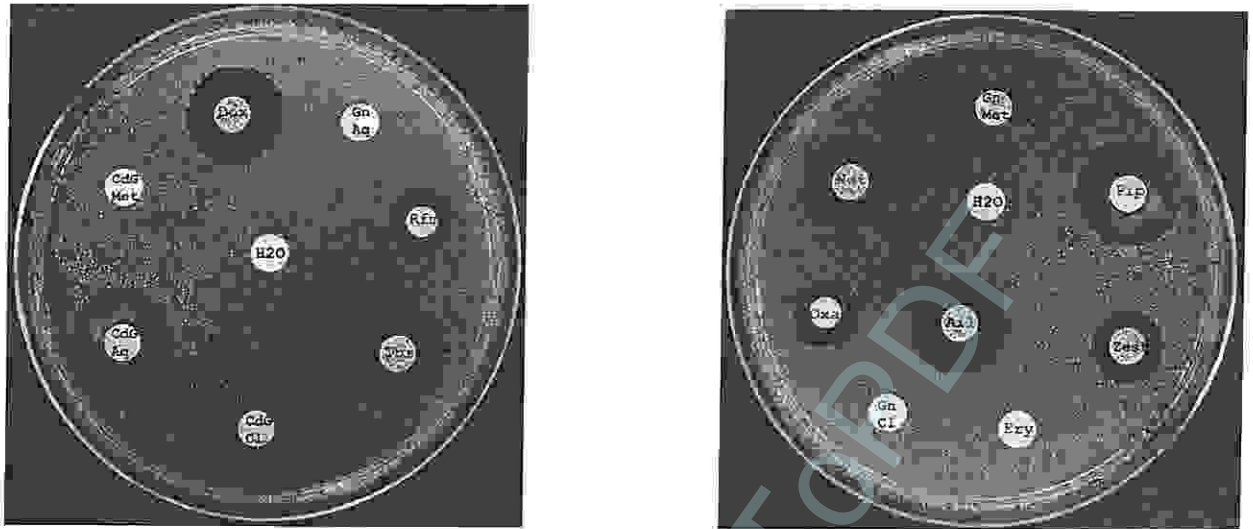
Une comparaison avec nos extraits nous donne une similarité de l'effet antibactérien avec le Gn Met, Gn Cl et Rifampicine d'une part, et le CdG Met avec un fort effet antibactérien semblable à l'effet de Pipracycline, Netilmycine, Tobramycine

III-4- Comportement de *Kleibseilla pneumonie* : Bactérie appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, se caractérise en étant une cause fréquente d'infections urinaires et pulmonaires d'origine nosocomiale, infections des plaies et infection pulmonaire secondaire, habituellement sensible aux aminosides et aux céphalosporines.

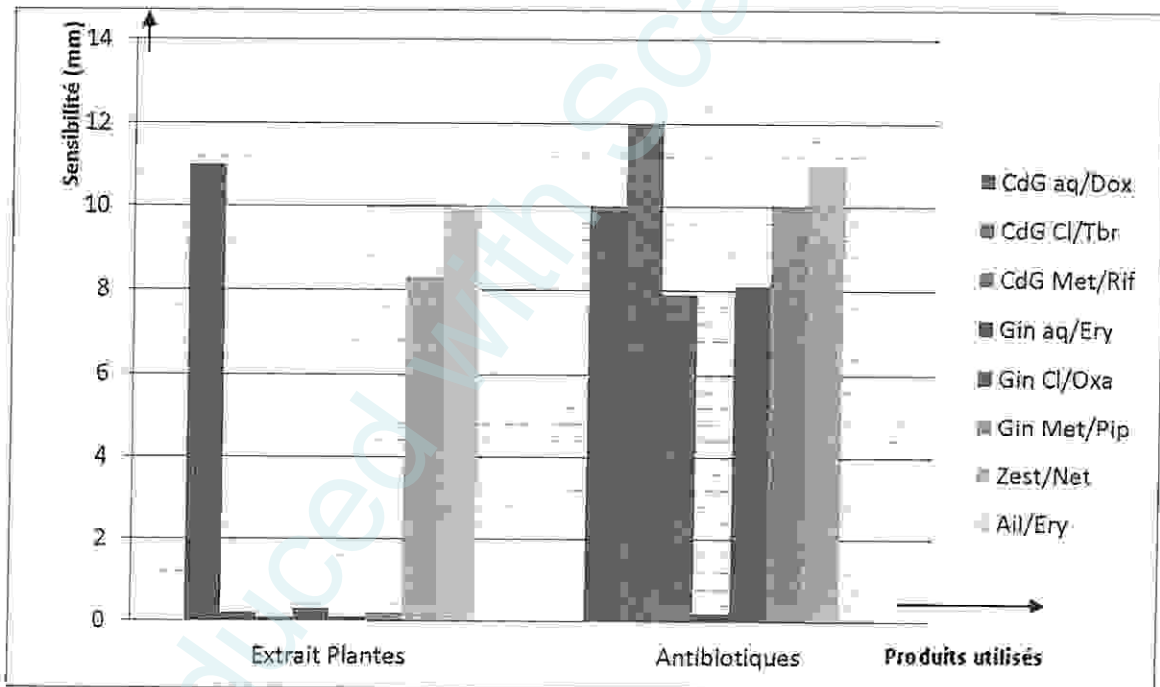
Dans notre étude elle a montrée une résistance à l'ensembles des extraits utilisé mise à part l'extrait de Zestes de pamplemousse (intermédiaire) et une forte sensibilité vis-à-vis de l'extrait l'ail (sensible) et le Clou de Girofle aqueux. (Tab VI, Fig. 17a et b).

Tableau VI : Résultats avec *Kleibseilla pneumonie*

Les extraits des plantes	La sensibilité aux extraits	Les antibiotiques	La sensibilité aux antibiotiques
Extrait de Clou de girofle aqueux	Sensible	Doxacycline	Sensible
Extrait de Clou de girofle par chloroforme	Résistante	Tobramycine	Sensible
Extrait de Clou de girofle par méthanol	Résistante	Rifampicine	Intermédiaire
Extrait de Gingembre aqueux	Résistante	Erythromycine	Résistante
Extrait de Gingembre par chloroforme	Résistante	Oxacyline	Intermédiaire
Extrait de Gingembre par méthanol	Résistante	Pipracycline	Sensible
Extrait de Zestes de pamplemousse	Intermédiaire	Netilmycine	Sensible
Extrait de l'ail	Sensible	Erythromycine	Résistante



(a)



(b)

Figure 17 : Résultats de l'antibiogramme(a) et présentation graphique(b) des tests sur *Klebsiella pneumoniae*

Des résultats obtenus montrent une sensibilité qualifiée d'intermédiaire de *Klebsiella pneumoniae* vis à vis de l'extrait du Zest de pamplemousse avec des diamètres d'inhibition de (8.1mm) en ce qui concerne les extraits de CdG Aq, et l'extrait de l'ail nous avons constaté

une forte sensibilité vis-à-vis de la bactérie avec des diamètres d'inhibition de 10 Mm pour l'extrait de l'ail et 13mm pour l'extrait de CdG Aq.

Les travaux de Smith-Palmer et coll., (1998) ; Ouattara et coll., (1997) ; Nascimento et coll., (2000), (2003) Burt et Reinders ,(2003) portant sur l'activité antibactérienne du clou de girofle contre de nombreuses souches bactériennes ont montré avec la technique du discs diffusion essay que l'huile essentiel du clou de girofle referment un pouvoir inhibitoires remarquables vis-à-vis de plusieurs microorganismes pathogènes dont *Kleibseilla pneumoniae*.

Les études de Cavallito et Bailey, (1944), Srivastava et coll., (1995) démontre la capacité de l'ail a inhibé la prolifération de nombreuse bactérie pathogènes on désactivant deux enzymes nécessaires à la prolifération bactériennes y compris la bactérie *Kleibseilla pneumoniae*.

Les travaux de Blankson et coll, (2000), Hegggers et coll, (2002), portées sur le pouvoir inhibiteur de la croissance bactérienne des bioflavonoïdes trouvé dans la pamplemousse, ont observés une sensibilité de plusieurs bactéries et virus y compris *Kleibseilla pneumoniae*.

En ce qui concerne les antibiotiques, la totalité ont un effet antibactérien contre *Kleibseilla pneumoniae* avec des diamètres qui varient entre (9 – 12mm), excepté l'Erythromycine qui n'a aucun effet.

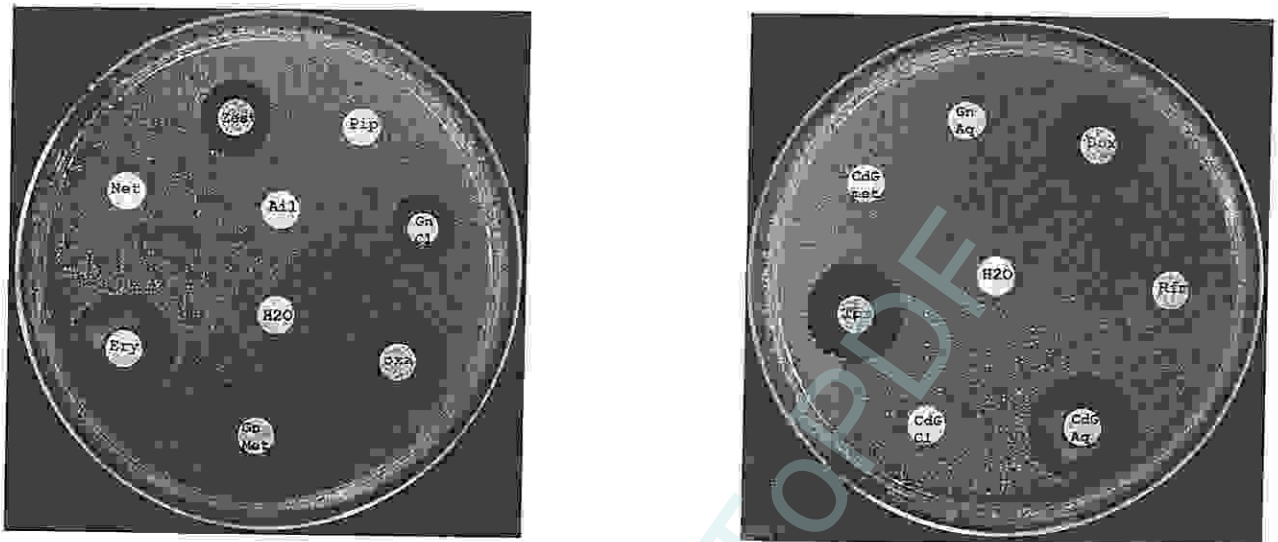
En comparaison avec nos extraits, le Zeste a eu le même effet antibactérien que la Rifampicine et l'Oxacyline tondit que l'ail et le CdG Aq ont un fort effet comparable à Pipracyclinc, Netilmycine, Doxacycline, Tobramycine.

III-5- Comportement de *Staphylococcus aureus* : Bactérie cocci à gram positif pathogène opportuniste de la flore normale productrices d'exotoxines se trouve impliqué dans de nombreuses pathologies, tel que les intoxications Alimentaires, Infection nosocomiale et les infections générales superficielles ou profondes comme les abcès ou les endocardites, sensibles dans la plus part des cas à la méthicilline et la vancomycine.

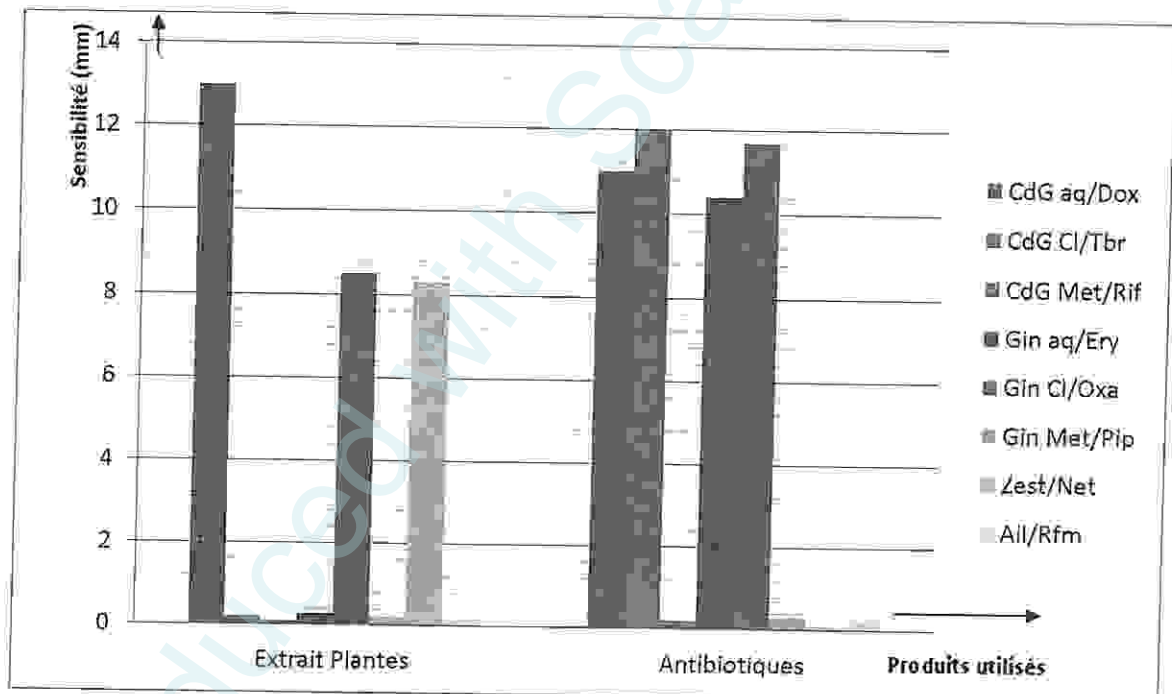
Cette bactérie Montre une résistance relativement générale aux Extraits Utilisé sauf dans les cas de l'extrait Gn Cl, et l'extrait du Zeste de pamplemousse ou elle manifeste une sensibilité intermédiaire et présente une très forte sensibilité vis-à-vis de l'extrait CdG Aq (sensible). (Tab VII, Fig. 18a et b).

Tableau VII : Résultats avec *Staphylococcus aureus*

Les extraits des plantes	La sensibilité aux extraits	Les antibiotiques	La sensibilité aux antibiotiques
Extrait de Clou de girofle aqueux	Sensible	Doxacycline	Sensible
Extrait de Clou de girofle par chloroforme	Résistante	Tobramycine	Sensible
Extrait de Clou de girofle par méthanol	Résistante	Rifampicine	Résistante
Extrait de Gingembre aqueux	Résistante	Erythromycine	Sensible
Extrait de Gingembre par chloroforme	Intermédiaire	Oxacyline	Sensible
Extrait de Gingembre par méthanol	Résistante	Pipracycline	Résistante
Extrait de Zestes de pamplemousse	Intermédiaire	Netilmycine	Résistante
Extrait de l'Ail	Résistante	Rifampicine	Résistante



(A)



(B)

Figure 18 : Résultats de l'antibiogramme(a)et présentation graphique(b) des testes sur *Staphylococcus aureus*

Les résultats obtenu dans notre étude démontre que la bactérie *S. aureus* c'est avéré relativement sensible en vers les extraits de Gingembre Chloroforme et le Zest de pamplemousse qui ont fait respectivement des Auriol d'inhibition de (8.3mm et 8.1mm), mais l'extrait de Clou de girofle Aqueux confirme une fois de plus son grand pouvoir antibactérien sur une large gamme de bactérie dont le *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de l'ordre de 13mm, une résistance clairement observable en ce qui concerne l'extrait de l'ail.

Des Etudes portant sur l'activité antibactérienne et antiphonique du gingembre mené par Awang et coll. (2011). Montre que l'huile essentielle extraite a partir de cette plante par hydro distillation et testé sur de nombreuses souches bactériennes a une activité antibactérienne sur 5 souches différentes de *S. aureus*, avec une CMI de 0.08ug/ul.

En ce qui concerne le clou de girofle nos résultats s'accordes avec ceux Les travaux de Smith-Palmer et coll., (1998) ; Ouattara et coll., (1997) ; Nascimento et coll., (2000) ; Rhayour et coll., (2003) Burt et Reinders, (2003) qui ont observés une sensibilité assez importante de *S. aureus* avec les huiles essentielles du Clou de girofle.

Les travaux de Bae et coll., (1999), Blankson et coll., (2000), Heggors et coll., (2002), Reagor et al., (2002), ont démontré la sensibilité de plusieurs souches bactérienne vis-à-vis de l'extrait de pamplemousse dont *S. aureus*.

En ce qui concerne les antibiotiques, la moitié ont eu un fort effet antibactérien contre *S. aureus* avec des diamètres qui varie entre (10.4 - 12mm) il s'agit de Doxacycline, Tobramycine, Oxacyline et Erythromycine par contre la Rifampicine, Pipracycline et la Netilmycine n'ont aucun effet.

La comparaison avec nos extraits, montre un fort effet antibactérien du CGaq semblable à l'Erythromycine. Un effet moindre du Gnel et Zest presque égal à l'effet de l'Oxacyline, Doxacycline, Tobramycine.

Conclusion

Produced with ScantOPDF

Conclusion

Notre planète laisse poussée plus de 800.000 espèces végétales sur sa surface dont 250.000 sont connues, parmi ces derniers L'OMS a répertorié plus de 22.000 plantes traditionnelles, seulement 5% de ces plantes ont fait l'objet d'études.

Avec la toxicité et la nocivité de certains médicaments synthétiques et l'inefficacité de certains d'autres contre les germes (acquisition des résistances), une alternative commence à s'imposer chez l'Homme, c'est de trouver des remèdes non nocifs à sa santé et efficaces vis-à-vis des différentes maladies qui le touchent.

C'est dans cet axe que s'inscrit notre travail pour contribuer à l'étude des plantes médicinales (traditionnelles) qui a été récompensé par des résultats modestes à cause des contraintes de matériels et de temps. Nos plantes étudiées ont eu un effet antibactérien semblable aux antibiotiques, à titre d'exemple l'ail avait le même effet antibactérien que l'oxacyline et netilmycine sur *E coli* ainsi que le CdGmet, avait le même effet que la piperacycline, netilmycine et tobramycine sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Notant aussi que certains antibiotiques n'ont eu aucun effet antibactérien alors que l'extrait de la plante a inhibé la croissance bactérienne, c'est le cas du zest avec la piperacycline, netilmycine et rifampicine.

Donc les plantes médicinales peuvent avec des recherches poussées et intensives substituer et avec succès les antibiotiques.

Perspectives

Si ce travail a permis de mettre en évidence des propriétés antibactériennes de quelques extraits de plantes, il est intéressant d'envisager dans un proche avenir de:

- déterminer les différents composants des extraits des plantes.
- Purifier le ou les principes actifs de ces plantes médicinales.
- Mettre en évidence les mécanismes d'action des principes actifs des plantes.
- Déterminer la CMI de chaque principe actif à fin de limiter au maximum les effets indésirables.
- Préparer des formes améliorées, de remèdes efficaces à base de ces plantes faciles à utiliser et à conserver et sans effets secondaires.

- 01) **Akoachere JF., Ndip RN., Chenwi EB., Ndip LM., Njock TE., Anong DN. (2002):** Antibacterial effect of *Zingiber officinale* and *Garcinia kola* on respiratory tract pathogens. *East Afr Med J.* N°11:588-592.
- 02) **Awang K., Ibrahim H., Rosmy Syamsir D., Mohtar M., Mat Ali R., Azah Mohamad Ali N. (2011):** Chemical constituents and antimicrobial activity of the leaf and rhizome oils. N°08:56-67.
- 03) ***Alpinia pahangensis* Ridl. (2011):** an endemic wild ginger from peninsular Malaysia. *Chem Biodivers.* N°4, 668-673.
- 04) **Benhamza L. (2008) :** Effets biologiques de la petite centaURÉE *Erythraea centaurium (L.)Pers.* Anatomie pathologique/pharmacologie. Mémoire de doctorat. Université mentouri-Constantine. Algérie.130p.
- 05) **Bae et coll (1999):** in vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of some flavonoids and their metabolites. *Planta Med* 1999; 65: 442-443.
- 06) **Blankson H., Grotterød E M. and Seglen P O. (2000):** Prevention of toxin-induced cytoskeletal disruption and apoptotic liver cell death by the grapefruit flavonoid, naringin. *Cell Death Differ.* 7, 739–746
- 07) **Boudjemaa N E. Ben guegua H. (2010):** L'effet Antibactérien de *Nigella sativa*. Mémoire d'Ingénieur. Université kasdi merbah-Quargla. Algérie, 60p.
- 08) **Burt SA., Reinders RD. (2003):** Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7, N° 16, 162–167.
- 09) **Cavallito J., Bailey JH. (1944):** Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. *J Am Chem Soc* 66:1950–1951.
- 10) **Chardin H., Baesotti O et Bonnaure-Mallet M. (2006) :** Microbiologie en odontostomatologie. Edition Maloine . 323p.
- 11) **Fansworth N R., Akeele O., Bingel A S., Soejarto D D et GuoZ. (1986):** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la sante. N° 64, 159-164. ∞

- 12) **Grosmond G. (2001)** : La phytothérapie. Elevage et agriculture biologique. Bulletin des GTVet HS. 143-145.
- 13) **Hallé F et Lieutaghi P. (2008)** : Aux origines des plantes : des plantes et des hommes. Edition Fayard. 643p.
- 14) **Heggens JP., Cottingham J., Gusman J. et coll (2002)**: The effectiveness of processed grapefruit seed extract as an antibacterial agent: II. Mechanism of action and in vitro toxicity. *J. Altern. Complement Med.* 8 : 333 -340.
- 15) **Inserin P., Masson M., Restellini J P., Ybert E., Delaage De Meux A., Moulard F., DelaRouque O et Vican P. (2008)** : Deesale-larouse des plantes médicinales : Identification, préparation et soin. Edition larouse. 335p.
- 16) **Indu MN¹, Hatha AAM², Abirosh C¹, Harsha U¹, Vivekanandan G³. (2006)**: Antimicrobial activity of some of the south-Indian spices against serotypes of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila*; *Braz. J. Microbiol.* vol.37 N°2.
- 17) **Kamagat K., Kone A., coulibly N T., Brou E et Sixou M. (2001)** : Etude comparative de différentes méthodes d'évaluation de la sensibilité des bactéries anaérobies strictes de la flore sous gingivale. *Odonto-stomatologie*. N° 95, 3-11.
- 18) **Konkon G., Simag D., Adjoungoma A L., N'guessan K E., Zirih G N et Kone B D. (2006)** : Etude photochimique de *mitragyna inermis*. *Pharm, Med, Tra, Afr.* 73 80.
- 19) **La rousse encyclopédie des plantes médicinales. (2001).** 353p.
- 20) **Malu SP., Obochi GO, Tawo EN AND Nyong BE. (2009)**: Antibacterial activity and medicinal properties of ginger (*zingiber officinale*), *global journal of pure and applied sciences* vol 15, N°3, 365-368.
- 21) **Nascimento GGF., Locatelli J., Freitas PC. and Silva G. (2000)**: Antibacterial activity of plant extract and phytochemical on antibiotic resistant bacteria. *Br. J. Microbiol.*31: 247-256.
- 22) **Ouattara B. et al. (1997)**: Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology.* 37. 155-62.

- 23) Onyeagba RA¹, Ugbogu OC², Okeke CU, and Iroakasi O¹ (2004):** Studies on the antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* Linn), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and lime (*Citrus aurantifolia* Linn; African Journal of Biotechnology, N^o3, .552-554.
- 24) Palmer S¹, Stewart J² and Fyfe L¹. (2004):** Influence of subinhibitory concentrations of plant essential oils on the production of enterotoxins A and B and α -toxin by *Staphylococcus aureus* j Med Microbio. N^o 53, 1023-1027.
- 25) Pousset J L. (2004) :** Les plantes médicinales d'Afrique comment les reconnaître et les utiliser. Edition Édisud. 262p.
- 26) Rhayourk., Bouchikhi T., Bendadda O., Berrada J. et Remmal A .** Principe actif et mécanisme d'action de l'activité bactéricide des huiles essentielles. Premier congrès de l'association Marocaine de physiologie endocrinienne et plantes médicinales (ampepem). Université Ibn Tofail-Kenitra du 01 au 03 novembre 2001.
- 27) Reagor L., Hegggers JP., Cottingham J., Gusman J., McCoy L., Carino E., Cox R., Zhao JG. (2002):** The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: II. Mechanism of action and in vitro toxicity. Altern Complement Med. Jun8(3):333-340.
- 28) Smith-Palmer A.; Stewart J. and Fyfe L. (1998):** Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.*, **26**, 118-122.
- 29) Srivastava S., Chandra A., Bhatnagar A., Srivastava SK., Ansari NH. (1995):** Lipid peroxidation product, 4-hydroxynonenal and its conjugate with GSH are excellent substrates of bovine lens aldose reductase. *Biochem Biophys Res Commun* 217:741-746.
- 30) Souza C., Koumaglo K et Gbessor M. (1995) :** Evaluation des propriétés antibactérienne des extraits aqueux totaux de quelques plantes médicinales. *Méd. Pharm. Tra. Afr.* 103-112.
- 31) Strang J (2006) :** Larousse médical. Edition Larousse. 1219P.
- 32) Singleton P. (2008) :** Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6 éditions Berti. 541p.
- 33) Zahalka JP. (2009) :** Les plantes en pharmacie. Edition Dauphin. 269p.

Sites d'internet**(1) Anonyme**

Site : http://www.google.com/imgres?imgurl=http://lancien.cowblog.fr/images/SanteClimatEnergie/bacterie.png&imgrefurl=http://lancien.cowblog.fr/avez-vous-deja-vu-des-bacteries-2848867.html&usq=__htPA6CFsZzZleGy4s7yG. (Consultation 15/05/2011)

(2) Philippon, A., 2004. La résistance à l'antibiotique.

Site : <http://www.microbe-edu.org/etudiant/antibio3.html>. (Consultation 06/05/2011).

(3) Philippon, A., 2004. La résistance à l'antibiotique.

Site : <http://www.microbe-edu.org/glossaire/detail.cfm?cle=1185>consultation.

(Consultation 06/05/2011).

(4) Philippon, A., 2004. La résistance à l'antibiotique.

Site : <http://www.microbe-edu.org/etudiant/antibio3.html>. (Consultation 06/05/2011).

(5) Pharmanetis Sàrl, 2010. Gingembre.

Site : <http://www.creapharma.ch/gingembre.htm>. (Consultation 11/04/2011).

(6) Hurtel Jean-Michel, 2001. Girofler.

Site : <http://www.phytomania.com/girofle.html>. (Consultation 11/04/2011).

(7) Jean-Jacques Descamps et Stéphanie Berg, 2010.

Site : http://www.fleurancenature.fr/t_dossier_ailsolution.asp(Consultation 14/05/2011).

(8) Shaddock, 2009. Pamplemousse.

Site : <http://tous-les-fruits.com/fruit-108.html>. (Consultation 15/04/2011).

(9) Anonyme

Site : <http://www.google.fr/search?q=Staphylococcus+aureus+sur+gelose&um=1&hl=fr&tbm=isch&ei=BxTYTdHGBMf1sgaHkvTtAg&start=0&sa.html> (Consultation 13/05/2011).

(10) Anonym

Site: <http://www.google.fr/search?hl=fr&q=e.%20coli%20sur%20gelose&um=1&ie=UTF-8&tbm=isch&source=og&sa=N&tab=wi.html> (Consultation 17/05/2011).

(11) Anonyme

Site: <http://www.google.fr/search?q=Pseudomonas&btnG=Rechercher&hl=fr&um=1&tbm=isch&source=og&sa=N&tab=wi&aq=f&aql=&aql=&coq.html>
(Consultation 21/05/2011).

(12) Anonyme

Site: <http://www.google.fr/search?q=salmonella%20typhimurium%20sur%20gelose&hl=fr&um=1&ie=UTF-8&tbm=isch&source=og&sa=N&tab=wi.html>
(Consultation 21/05/2011).

(13) Anonyme

Site: <http://www.google.fr/search?hl=fr&um=1&q=klebsiella%20pneumoniae%20sur&ie=UTF-8&tbm=isch&source=og&sa=N&ta.html> (Consultation 21/05/2011).

Produced with ScanTopDF

Gélose de Müller- Hinton

Pour 1 litre de milieu :

Hydrolysât acide de caséine.....	17.5g
Infusion de viande.....	2.0g
Amidon soluble.....	1.5g
Agar Agar bactériologique.....	17.0g

PH de milieu prêt à l'emploi à 25 °C : 7.3 ± 0.2 .

Autoclaver à 120 °C pendant 15 min.

Bouillon nutritif

Pour 1 litre de milieu :

Tryptone.....	10.0g
Extrait de viande.....	5.0g
Chlorure de sodium.....	5.0g

PH de milieu prêt à l'emploi à 25 °C : 7.3 ± 0.2 .