

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité Microbiologie Fondamentale



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Activité antibactérienne de quelques
extraits d'origine végétale vis-à-vis de
S. aureus et de quelques Entérobactéries**

Présenté par :
BOUYOUCF Cilia & FELKAOUI Chahira
Soutenu le : **07 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M. DJOUDI Ferhat	MCA	Président
M. BETTACHE Azzedine	MCA	Encadreur
M. BOUKHALFA Farid	MCA	Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018



DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail à
Mes chers parents qui m'ont soutenu depuis ma
naissance jusqu'à ce jour et nuls ne peut le
diffamer;*

*A Ma grande mère, qui as su m'encourager, me
soutenir tout au long de mes études ainsi que à
toutes mes tantes ;*

A Mes chers frères et sœurs ;

A la famille de mon collègue ;

A mes amis fatiha, cilia, wafa, ,feriel, ,linda, ,linda,

A ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin.

FELKAOUI Chahira



DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à

*Mes chers parents la lumière de ma vie, pour leurs
sacrifices qui m'ont tout donné et offert durant
toutes mes études*

À

*Mon grand-père que dieu l'accueille dans son vaste
Paradis*

Ma grande mère, que je lui souhaite une longue vie

*Mon frère : Djamel, sa femme Hassiba et leurs
enfants*

*Ma chère sœur Biba et son mari Toufik et leur
future fille ainsi que toute la famille khenous*

Mes sœurs : Fouzia, Hadjira et Linda

À

Mes amis

Hassiba, Ouafa, Sara, Chahira, Ibtissam

BOUYOUCÉF Cilia

Remerciement

Merci à Dieu qui nous a aidé et dirigé tout le long de notre chemin, ainsi qu'à tous qui ont contribué dans notre formation.

Nous tenons à remercier :

Profondément, notre encadreur Mr DJOUDI F. pour le privilège et la confiance qu'elle nous a accordé durant l'étude pratique, et d'avoir accepté de diriger ce travail avec compétence, pour sa disponibilité, son aide, sa patience, ainsi que ses précieux conseils.

Nous tenons à remercier :

Mr BATTACHE A. d'avoir accepté de présider le jury pour sa sympathie et sa gentillesse.

Mr BOUKHALFA F. d'avoir voulu accepté de participer à ce jury. Nous sommes particulièrement heureux de bénéficier de ses critiques et nous lui exprimons nos profondes considérations.

Nos remerciements les plus sincères vont vers les membres de laboratoires de Microbiologie.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail du près ou de loin.

Sommaire

INTRODUCTION	01
--------------------	----

Chapitre I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Gommose	02
I.1. Historique	02
I.2. Définition	02
I.3. Structure chimique de la gomme.....	03
I.4. Propriété de la gomme	03
I.5. L'effet thérapeutique de la gomme	03
II. Les végétaux producteurs de la gomme	04
II.1. L'abricot.....	04
II.2. L'amandier	04
II.3. sapin	05
III. Les Entérobactérie et les staphylocoques.....	05
III.1. Les entérobactéries	05
III.1.1. Historique et classification	05
III.1.2. caractéristiques générales	06
III.1.3. pouvoir pathogène	07
III.2 staphylococcus <i>aureus</i>	08
III.2.1. définition et taxonomie.....	08
III.2.2. caractères cultureux et métaboliques.....	08
III.2.3. facteurs de virulence.....	08
IV. L'activité antibactérienne	09
IV.1. Généralité	09
IV.2. l'activité antimicrobienne naturelle de certaines substances et organisme.....	10
IV.3. la nécessité de rechercher nouvelles molécules antimicrobienne	10

Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

I. Objet et choix de l'étude	11
I.1. Choix de l'extrait	11
I.2. matériel, appareillage et produit utilisés	11
I.3. Matériel biologique	11
II. Extraction	11
II.1. Séchage	11
II.2. Broyage	11
II.3. Macération	12
II.4. Centrifugation	12
II.5. Microfiltration	12
III. Souches bactériennes.....	14
III.1. L'identification des entérobactéries	15
III.1.1. L'aspect morphologique.....	15
III.1.2. Caractères biochimiques	15

III.2. Identification des staphylocoques	16
III.2.1. Aspect macroscopique.....	16
IV. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	17
V. Détermination de la CMI.....	19

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats d'identification des entérobactéries	20
II. Résultats d'identification des staphylocoques.....	21
III. Extraction	22
IV. Les Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait de gomme.....	22
V. Détermination CMI d'extrait de gomme d' <i>Abie numidica</i>	29

CONCLUSION	31
------------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

• EMB	Eosine-méthylène bleau agar
• RM	Rouge de méthyle
• VP	Voges-proskauer
• TSI	Triples Sugar Iron
• H ₂ S	Hydrogène Sulfuré
• BHIB	Brain Heart Infusion Brouth
• VRBL	Lactosée Biliées au Cristal Violet et au Rouge Neutre
• CMI	Concentration minimal inhibitrice
• CMB	Concentration minimal bactéricide
• SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistante à la méthyciline
• SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méthyciline
• NR 1	Nitrate Réductase 1
• NR 2	Nitrate Réductase 2
• Na Cl	Chlorure de sodium
• FOX	Céfoxitine

Liste des figures

Figure 1 : Photographie de la gomme <i>d'Abie numidica</i> .	Page 2
Figure 2 : Macération des trois extraits dans l'eau distillée.	Page 12
Figure 3 : Les différentes étapes de l'extraction.	Page 13
Figure 4 : Protocole du test d'activité.	Page 18
Figure 5 : L'extrait pur de gomme <i>d'Abie numidica</i> , <i>prunus dulcis</i> et <i>prunus armeniaca</i> .	Page 22
Figure 6 : Histogramme comparatif de la sensibilité de quelques souches bactériennes testées à l'extrait d' <i>Abie numidica</i> , <i>prunus dulcis</i> et <i>prunus armeniaca</i> .	Page 24
Figure 7 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait de gomme <i>d'Abie numidica</i> , <i>prunus dulcis</i> et <i>prunus armeniaca</i> sur les entérobactéries.	Page 26
Figure 8 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait de gomme <i>d'Abie numidica</i> , <i>prunus dulcis</i> , <i>prunus armeniaca</i> sur les <i>Staphylococcus aureus</i> .	Page 27
Figure 9 : Résultats de la CMI sur la microplaque	Page 30

Liste des tableaux

Tableau I : classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine	Page 6
Tableau II : Quelque facteurs de virulence de <i>staphylococcus aureus</i>	Page 9
Tableau III : Répartition des souches étudiées	Page 14
Tableau IV : Caractères cultureux et biochimiques des entérobactéries sur Gélose EMB	Page 20
Tableau V : Résultats d'identifications des Staphylocoques	Page 21
Tableau VI : Résultats du test d'activité antibactérienne	Page 23
Tableau VIII : Résultats de la concentration minimale inhibitrice d'extrait de gomme (<i>Abie numidica</i>)	Page 29

Introduction

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme, parfois affecté des troubles insidieux **(Aissa-Baba, 2000)**.

Aujourd'hui, et malgré les progrès réalisés en médecine, plusieurs populations ont recours aux plantes pour se soigner, soit par inaccessibilité aux médicaments prescrits par la médecine moderne, soit par ce que ces plantes ont donnés des résultats thérapeutiques très encourageants et à moindre effets secondaires remarqués lors de leur utilisation, soit parce qu'elles sont moins agressives et moins nocives pour l'organisme **(Arrif et Benkhaled, 2009)**.

Pour cela, le retour vers le naturel est devenu indispensable et doit suivre certaines conditions, en vue de son utilisation dans le monde vaste des anti-infectieux, qui s'élargit d'un jour à l'autre avec des substances plus puissantes, plus toxiques et plus coûteuses. La condition, principale pour ce regain, est une étude scientifique rigoureuse et rationnelle de l'activité antimicrobienne des différents extraits naturels **(Bouquet, 1969)**.

Le développement de différentes espèces parmi lesquelles diverses plantes aromatiques, alicamentaires et médicinales, dont certaines secrètent des exsudats. Ces substances sont largement utilisées notamment comme « colle » et pour soigner diverses maladies. Cependant, un nombre restreint de ces substances a fait l'objet d'étude scientifique, il s'agit des exsudats comme la gomme **(Bouquet, 1969)**.

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antibactérienne d'extrait de gomme naturelle de trois arbres (Sapin, Abricot et Amandier) de la région de Kherrata wilaya de Béjaia vis-à-vis quelque souches d'entérobactérie et de *Staphylococcus aureus*.

Durant notre étude, nous allons procéder à :

L'extraction des extraits bruts de gomme.

La mise en évidence de l'activité de gomme contre différentes souches testées.

La détermination de la concentration minimale inhibitrice.

I. Gommose

La gommose est un mécanisme qui relie à une invasion parasitaire ou due à des conditions de croissance défavorables, associe la blessure ou à un état de stress pour expliquer l'apparition de gomme (**Gaye, 1988**).

I.1. Historique

Les premières observations d'écoulements de gomme, le long du tronc des agrumes, remontent à une époque reculée. Le botaniste arabe Ibn Al-Awam, notamment, en aurait signalé en Espagne, dès le X^e siècle.

Toutefois, le premier cas de gommose décrit avec des détails suffisamment concordants, pour qu'on puisse admettre qu'il s'agissait bien de la gommose à *Phytophthora*, fut observé aux Iles Açores, en 1832. La maladie semble s'être répandue ensuite dans le Bassin Méditerranéen. Sa propagation a été ralentie, mais non pas arrêtée, par l'utilisation du bigaradier comme porte-greffe. L'extension de la maladie dans le monde a été étudiée par (**Fawcett, 1936**), qui la signale dans le Bassin Méditerranéen (Espagne et Tunisie notamment), mais pas au Maroc.

Toutefois, il mentionna quelques lignes plus loin, qu'une maladie semblable a été observée dans tous les pays producteurs d'agrumes de cette région. En ce qui concerne plus particulièrement le Maroc, une brochure éditée par le Service de la Défense des Végétaux décrit l'affection et suggère des méthodes de lutte. L'incidence selon les régions n'y est pas envisagée. A ce sujet, une enquête menée, avec l'aide de L'Association des Producteurs d'Agrumes du Maroc, a révélés l'existence de cas de gommose dans toutes les zones agrumicoles du pays (**Vanderweyen, 1966**).

I.2. Définition

La gomme est un exsudat collant comestible et sec, qui est riche en fibres solubles non-visqueux. Dû à sa forte solubilité dans l'eau, de sa faible viscosité, et de ses propriétés d'émulsification (**Kuck & Norena, 2016**), elle est utilisée dans la médecine classique arabe pour diminuer à la fois la fréquence et le besoin d'hémodialyse chez les patients souffrant des maladies chroniques d'insuffisance rénale. (**Ahmed et al., 2016**). La figure 1 présente une photo de gomme.



Figure 1 : Photographie de la gomme
d'*Abie numidica* .

I.3. Structure chimique de la gomme

La gomme est un hétéro polysaccharide de structure complexe et ramifiée. Il s'agit d'un polyanion qui est généralement associé à des ions calcium, magnésium ou potassium pour former un sel d'acide polysaccharidique. La chaîne principale est essentiellement composée d'unités β -D-galactopyranosyl liées en 1- γ . Ces mêmes unités (β -D-galactopyranosyl) ramifient la chaîne principale en 1-6. Les ramifications sont également constituées d'unités α -L-arabino furanosyl, α -L rhamnopyranosyl, β -D-glucuronopyranosyl et 4-O-méthyl- β -glucuronopyranosyl. La gomme contient approximativement 39 à 42% de galactose, 24 à 27% d'arabinose, 12 à 16% de rhamnose, 14 à 16% d'acide glucuronique, qui lui confèrent son caractère anionique, 1,5 à 2,6% de protéines et 0,22 à 0,39 % d'azote (Ali et al., 2008).

I.4. Propriétés de la gomme

En raison de la structure ramifiée compacte et donc faible volume hydrodynamique, les solutions de la gomme sont caractérisées par une faible viscosité, ce qui permet l'utilisation de concentrations élevées de gomme dans diverses applications, la couleur des nodules de gomme est jaune pâle au brun. Le caractère anionique marqué de la gomme arabique induit des répulsions électrostatiques entre les chaînes chargées tendant à augmenter légèrement le rayon hydrodynamique de la gomme à des pH élevés (Schmitt, 2000).

I.5. L'effet thérapeutique de la gomme

Les usages en médecine populaire sont également nombreux. La gomme est un médicament contre les maux, et elle peut être utilisée pour panser les blessures et les brûlures. Au Sahara occidental, en cas de diarrhées légères, on se contente parfois de sucer un peu de gomme de ce taxon. Sachant que la gomme dissoute dans l'eau est utilisée pour traiter les affections oculaires, la jaunisse et les maladies pulmonaires.

La gomme était aussi en usage chez diverses nations amérindiennes de l'Amérique du Nord. Ainsi, les Montagnais se servaient de la gomme bouillie pour soigner le mal de gorge, le rhume, la tuberculose, la toux, les furoncles ou les abcès, Pour faisaient un onguent destiné à soigner divers problèmes dermatologique (Blumenthal, 1998).

Aujourd'hui, les principaux usages de la gomme restent le traitement, par voie externe, des problèmes rhumatismaux et des blessures, abcès, ulcères aux jambes, ainsi que le traitement, par voie interne, des problèmes des voies respiratoires (Blumenthal, 1998).

II. Les végétaux producteurs de la gomme

D'après ce chercheur, l'exsudation serait une réaction physiologique due à un stress caractérisé par une température élevée, par un manque d'eau dans le sol et par la chute des feuilles, par conséquent l'absence de photosynthèse. Les éléments nécessaires à la multiplication cellulaire responsable de la cicatrisation ne pouvant être élaborés, il y aurait alors exsudation de gomme pour refermer la blessure (**Gaye, 1988**).

La gomme est produite par les arbres et arbustes appartenant à un certain nombre de familles, mais surtout des Anacardiaceae, Combretaceae, Léguminosae, Rosaceae, Rutaceae, et Sterculiaceae (**Greenish, 1933**).

II.1. L'abricot :

L'abricotier est une espèce vigoureuse, majoritairement auto fertile qui peut atteindre plus de six mètres de haut en situation favorable. Le port peut être érigé ou de forme retombante. Sa floraison est précoce (entre février et avril), le rendant sensible aux gels de printemps. Les fleurs, assez grandes, blanches ou roses pâle, apparaissent avant les feuilles (**Yilmaz & Gurcan, 2012**). De plus, la nature du sol (pH acide, sol argileux), sa texture (sables grossiers), une forte teneur en eau et une plantation profonde semblent sensibiliser le verger pour une attaque de bactériose exemple des points de gomme (**Young, 1987 ; Vigouroux et Bussi, 1994 ; Lefèvre et al., 1999 ; Lamichhane et al., 2014**). L'abricotier (*Prunus armeniaca* L.) appartient au genre *Prunus* et à la famille des *Rosaceae* (*Prunoideae*) et à l'ordre des *Rosales* (**Rehder, 1949**).

II.2. Amandier

L'amandier est un arbre fruitier, d'une hauteur moyenne de 6 à 8m atteignant parfois 12m au Portugal. Vit en moyenne 50 ans, mais on trouve facilement des sujets centenaires système racinaire puissant, pivotant, tronc et branche charpentières tortueux en début de floraison les fleurs résistent à 3°C, 4°C et détruite à 2°C, 1,5°C (**Jean, 1979**).

Les amandiers classer dans la famille des rosaceae, genre prunus, sous genre *Amygdalus* (**ozcan et al, 2011**). Les amandes désignées comme *prunus amygdalus dulcis* (**Yada et al, 2011**).

II.3. Sapin

Le Sapin de numidie est un arbre à feuillage persistant et touffu, c'est une espèce de haute montagne. Comme tous les sapins méditerranéens, pour lesquels l'aire naturelle

est située dans les zones dépassant les 2000 m d'altitude avec des hivers froids et très froids (**Duckrey, 1998**).

La gomme de sapin constitue un des remèdes essentiels employés comme antiscorbutique, comme antiseptique dans les blessures et en cataplasme sur les brûlures. De cette gomme, diverses préparations ont été tirées, notamment une huile de térébenthine et un goudron médicinaux (**Tlili et al., 2013**). *Abies numidica* est communément appelé : sapin de Kabylie, sapin d'Algérie, classé dans :

Embranchement : Spermaphytes, **Ordre** : Coniférales, **Famille** : Pinacées

Genre : *Abies*, l'espèce : *Abies numidica* (**Liu, 1971**).

III. Les Entérobactéries et les Staphylocoques

III.1. Les Entérobactéries

III.1.1. Historique et classification

La naissance de la famille des *Enterobacteriaceae* remonte à 1937, lorsqu'Otto Rahn proposa le genre *Enterobacter* pour regrouper les microorganismes. Les Entérobactéries sont très hétérogènes pour ce qui est de leur pathogénicité. Les espèces qui composent cette famille sont, en effet, soit parasites, soit commensales (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp*), soit encore saprophytes (*Serratia sp*, *Enterobacter sp*) (**Bakhoun, 2004 ; Pierre, 2002 ; Marie, 2003**).

Les entérobactéries sont définies par un ensemble de caractères généraux communs. Ce sont des bacilles à gram négatif, non sporulés, le plus souvent mobiles grâce à une ciliature péritriche. Cependant, dans certains cas, des bactéries des genres *Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia* sont immobiles. Les entérobactéries sont aérobies-anaérobies facultative, cultivables sur les milieux ordinaires, fermentent le D-glucose avec ou sans production de gaz, réduisent les nitrates en nitrites et possèdent une catalase (sauf *Shigella dysenteriae* sérotype 1). Ces caractères permettent de différencier les entérobactéries des autres bacilles à gram négatif qui poussent sur les milieux usuels (**Brenner, 1984**).

Ces bactéries sont en général des hôtes normaux ou pathologiques, selon l'espèce, du tube digestif de l'homme, des animaux et de l'environnement tels que les sols et les eaux (**Carbonnelle et al., 1987 ; Drame, 2001**).

Les Entérobactéries englobent actuellement 100 espèces classées. Les genres et espèces les plus facilement isolés en bactériologie clinique sont regroupés dans le tableau I.

Tableau I : Classification des espèces d'Entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine (Philippon, 2000).

Genre	Espèce
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>
<i>Shigella</i>	<i>dysenteriae, sonnei, boydii, flexerii</i>
<i>Salmonella</i>	<i>typhi, Paratyphi</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae, oxytoca</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae, aerogenes</i>
<i>Serratia</i>	<i>marcescens</i>
<i>Proteus</i>	<i>mirabilis, vulgaris</i>
<i>Providentia</i>	<i>rettgerii, stuartii</i>
<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i>
<i>Hafnia</i>	<i>alvei</i>
<i>Yersinia</i>	<i>pestis, enterocolitica, pseudotuberculosis</i>

III.1.2. Caractéristiques Générales

➤ Caractères morphologiques

Les Entérobactéries sont des bacilles ayant en moyenne 2 à 3 µm de longueur et 0.6µm de largeur. Ces dimensions varient selon l'âge de la culture, l'espèce, voir la souche. Elles sont généralement mobiles par ciliature péritriches. Certaines entérobactéries peuvent produire des exo-polysaccharides à leurs surfaces qui forment soit une capsule, soit une couche visqueuse fluides appelée « slim » (Costerton, 1981).

➤ Caractères culturels

Les Entérobactéries se développent sur tous les milieux gélosés ordinaires à base de peptone ou d'extraits de viande en 18 heures à 35-37 °C en donnant des colonies rondes, lisses, à contour régulier dont le diamètre est de 2 à 3 mm (Carbonnelle et al., 1987).

➤ Caractères biochimiques

Les Entérobactéries sont : chimio-organotrophes, fermentent le glucose (avec ou sans production de gaz), possèdent à la fois un métabolisme respiratoire et fermentatif. (Bakhom, 2004 ; Bourjilat, 2009 ; Carbonnelle et al., 1987).

➤ Caractères antigéniques

Le sérotypage des Entérobactéries est défini par différents antigènes :

L'antigène O : est un antigène de paroi, thermostable, c'est-à-dire résistant 2 h à un chauffage de 100°C, très toxique, il s'agit d'une endotoxine.

L'antigène H : est un antigène flagellaire de nature protéique, thermolabile détruit par l'alcool à 50 % et par les enzymes protéolytiques.

L'antigène K : est un antigène capsulaire de nature polysaccharidique (**Larpen et Gourgaud, 1985**).

III.1.3. Pouvoir pathogène

Il s'agit d'une très vaste famille qui représente près des trois quarts des isollements d'un laboratoire de bactériologie médicale. Elles sont responsables de deux grands types de manifestations pathologiques, Une pathologie spécifique telle que la typhoïde, Une pathologie opportuniste avec, pour certaines, une notion d'hospitalisme infectieux marqué (**Singleton, 1994**).

➤ *Escherichia coli*

E. coli est responsable d'infections extra-intestinales, infections urinaires, infections abdominales et septicémies avec choc septique dû à l'endotoxine O et d'infections intestinales : l'existence des diarrhées à *E. coli* est connue depuis 1940. Ces diarrhées sont dues à des souches de sérotypes particuliers qui provoquent soit des cas sporadiques, soit des petites épidémies (**Abhijit et al., 2013**).

➤ *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est responsable d'infections communautaires et d'infections nosocomiales. Parmi les infections communautaires, *K. pneumoniae* est responsable d'infections bronchopulmonaires incluant les pneumonies lobaires nécrosantes et les abcès pulmonaires. Cette espèce est également responsable d'infections urinaires et digestives, ainsi que de bactériémies et d'infections neuroméningées post-traumatiques ou post-chirurgicales. Isolée surtout dans le service de réanimation, elle représente 10% des infections hospitalières (**Freney et al., 2007**).

III.2. *Staphylococcus aureus*

III.2.1. Définition et Taxonomie

Ce sont des cocci à Gram positif très fréquents chez l'homme à l'état commensal ou pathogène. Il est immobile, non sporulé et ne possède pas de capsule visible au microscope optique. Il mesure 0,8 à 1 micromètre. Ils se présentent de façon isolée, en diplocoques ou groupés en amas. Ils sont rependus dans la nature (l'eau, sol) et vivent souvent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humains et animaux (**Ferron, 1983 ; Flandrois, 1997**).

Selon la 9^{ème} édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC, dans le **Phylum : firmicutes**.

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Staphylococcaceae

Genre : Staphylococcus

Espèce : aureus (Perscott et al., 2010)

III.2.2. Caractères cultureux et métaboliques

Le staphylocoque se multiplie facilement à 37°C en aérobie et en anaérobie, aussi bien sur des milieux ordinaires (gélose) que sur des milieux sélectifs, tel que le milieu hyper salé de Chapman. Ce milieu est utilisé pour les prélèvements pluri microbiens. Il forme en 24 H des colonies lisses de 1 à 4 mm de 22 diamètres. *S. aureus* est coagulase (+), Dnase (+), nitrate-réductase (+), phosphatase (+), D-mannitol (+), acidification (Dabernat et al., 1992).

III.2.3. Facteurs de virulence

Cette bactérie est solidement armée pour effacer un certain nombre de défenses que son hôte pourrait lui opposer (anticorps, phagocytose ou cytotoxicité), ces parades se distribuent en plusieurs groupes de toxines. La pathogénicité de *S. aureus* est surtout reliée à l'expression de facteurs de virulence. En plus de facteurs structuraux, il a en effet la capacité de sécréter, après invasion, des facteurs d'adhésion, des toxines ou encore des enzymes. Quelques exemples de ces facteurs sont résumés dans le tableau II.

Tableau II : Quelques facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (Cheung, 2001)

Facteur	Gène	Fonction
Clumping facteurs A	<i>clfA</i>	Adhésion au fibrinogène
Clumping facteur B	<i>clfB</i>	Adhésion au fibrinogène
Coagulase	<i>coa</i>	Liaison au Fibrinogène
Protéine Fib A	<i>fibA</i>	Liaison au Fibrinogène
Collagène lié à la protéine	<i>cna</i>	Adhésion au collagène
Elastine lié à la protéine	<i>ebps</i>	Liaison à l'élastine
Protéine A	<i>spa</i>	Invasion possible des défenses de l'hôte
Plysaccharides capsulaires	<i>cap</i>	Molécule Anti-phagocytose
Entérotoxines A-E ,H	<i>Sea-e,h</i>	Invasion des de l'hôte, superantigènes,
toxine du choc Toxique -1	<i>tst</i>	superantigènes responsables de TSST1
Toxine exfoliative A,B	<i>eta,etb</i>	responsables du syndrome de la peau ébouillantée
Lipase	<i>geh</i>	Invasion des défenses de l'hôte

IV. L'activité antibactérienne

IV.1. Généralité

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des Antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à d'origine microbienne, végétale, synthétiques ...etc. (Billings et Sherman, 1998).

IV.2. L'activité antimicrobienne naturelle de certaines substances et organismes

Le nombre de microorganismes multirésistants augmente, il y a une grande inquiétude que plusieurs antibiotiques deviendront inefficaces. Alors, la découverte et le développement de nouveaux agents antimicrobiens sont grandement recherchés. De ce fait, plusieurs scientifiques à la recherche de nouveaux agents antimicrobiens commencent à porter une attention particulière aux végétaux (Hopley et Schalkwyk, 2006). Les plantes contiennent des produits chimiques naturels, nommés phytochimiques, lesquels sont reconnus pour démontrer des activités antimicrobiennes. Les phytochimiques ont des propriétés protectrices et préventives contre des maladies.

Les végétaux ont longtemps été une source importante de produits naturels utilisés pour la santé, Approximativement 80% des individus vivant dans des pays développés utilisent la médecine traditionnelle. Des scientifiques, ont basé la sélection de plantes pour leur recherche à l'aide d'informations ethnobotaniques, ainsi que leur utilisation par le

peuple indigène. Il s'ensuit que les produits naturels dérivés des végétaux devraient être étudiés davantage pour découvrir leur potentiel antimicrobien (**Jones et al., 2000**).

IV.3. La nécessité de rechercher de nouvelles molécules antimicrobienne

Un antibiotique est une substance antibactérienne produite par des micro-organismes (champignons et bactéries) ou de synthèse chimique capable d'inhiber la multiplication ou de détruire les microorganismes (**Benbrinis, 2012**). Cette action peut être seulement inhibitrice de la croissance, elle est alors bactériostatique et réversible mais elle peut aussi être létale et dans ce cas elle est bactéricide et irréversible. Souvent un même antibiotique peut exercer l'un ou l'autre de ces effets, en fonction de sa concentration (**Bousseboua, 2002**).

Les substances antimicrobiennes sont définies comme étant des substances utilisées Pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens et antifongiques. Ces substances synthétiques ont été employées couramment. Cependant, en raison du souci croissant des consommateurs aux denrées contenant de tels additifs chimiques, la recherche des additifs naturels, particulièrement d'origine végétale, a notamment augmenté ces dernières années. Par conséquent, le développement des produits naturels possédant une activité antibactérienne s'avère nécessaire et utile (**Bouguerra, 2012**).

I. Objectif et choix de l'étude

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des extraits d'origine végétale à travers la détermination de l'activité antibactérienne des gommages de trois arbres *in vitro*.

Les objectifs principaux de ce travail sont la recherche de nouvelles molécules douées d'activité antimicrobienne vis-à-vis de quelques pathogènes, et la caractérisation partielle de ces molécules. Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie au sein de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia (Algérie).

I.1. Choix de l'extrait

La gomme « exsudat de sève solidifié », produite naturellement ou à la suite d'une incision sur le tronc et au pied de l'arbre, a été récoltée dans la région de Kherrata wiliya de Bejaia. Ce choix a été basé sur son utilisation fréquente par la population locale en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies : les affections pulmonaires, l'affection oculaire, en cas de diarrhées légères et elle peut être utilisée pour panser les blessures et les brûlures.

I.2. Matériel, appareillage et produits utilisés

Les matériels, les réactifs et les milieux utilisés pendant cette étude sont indiqués dans l'annexe 1.

I.3. Matériel biologique

Cette étude a porté sur trois extraits de différents arbres qui se trouvent sous forme des gommages : gomme d'abricot (*Prunus armeniaca*), gomme d'amandier (*Prunus dulcis*) et la gomme du pin sapin (*Abies numidica*).

II. Extraction

L'extraction consiste à transférer l'extrait végétal d'une phase solide à une phase liquide dont le but est d'isoler une ou plusieurs molécules à partir de l'organisme végétal par la technique d'extraction solides – liquide selon les étapes suivantes :

II.1. Séchage

Les gommages collectés sont séchés pendant quelque jours à température ambiante, à l'abri du soleil.

II.2. Broyage

Le Broyage a été réalisé à l'aide d'un mortier pour réduire la taille des particules et avoir une poudre.

II.3. Macération

En prend trois fioles de 500ml dont chacune contienne 500 ml de l'eau distillé. Chaque volume est reçu ensuite 5g de l'extrait de poudre broyée de chaque gomme et soumis à une agitation à l'aide d'un barreau magnétique à température ambiante pendants 24 heures.

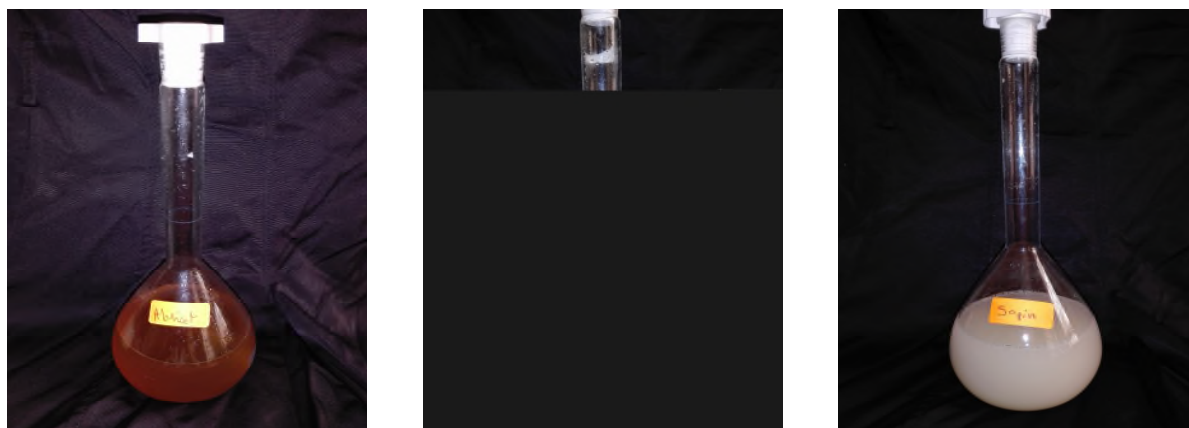


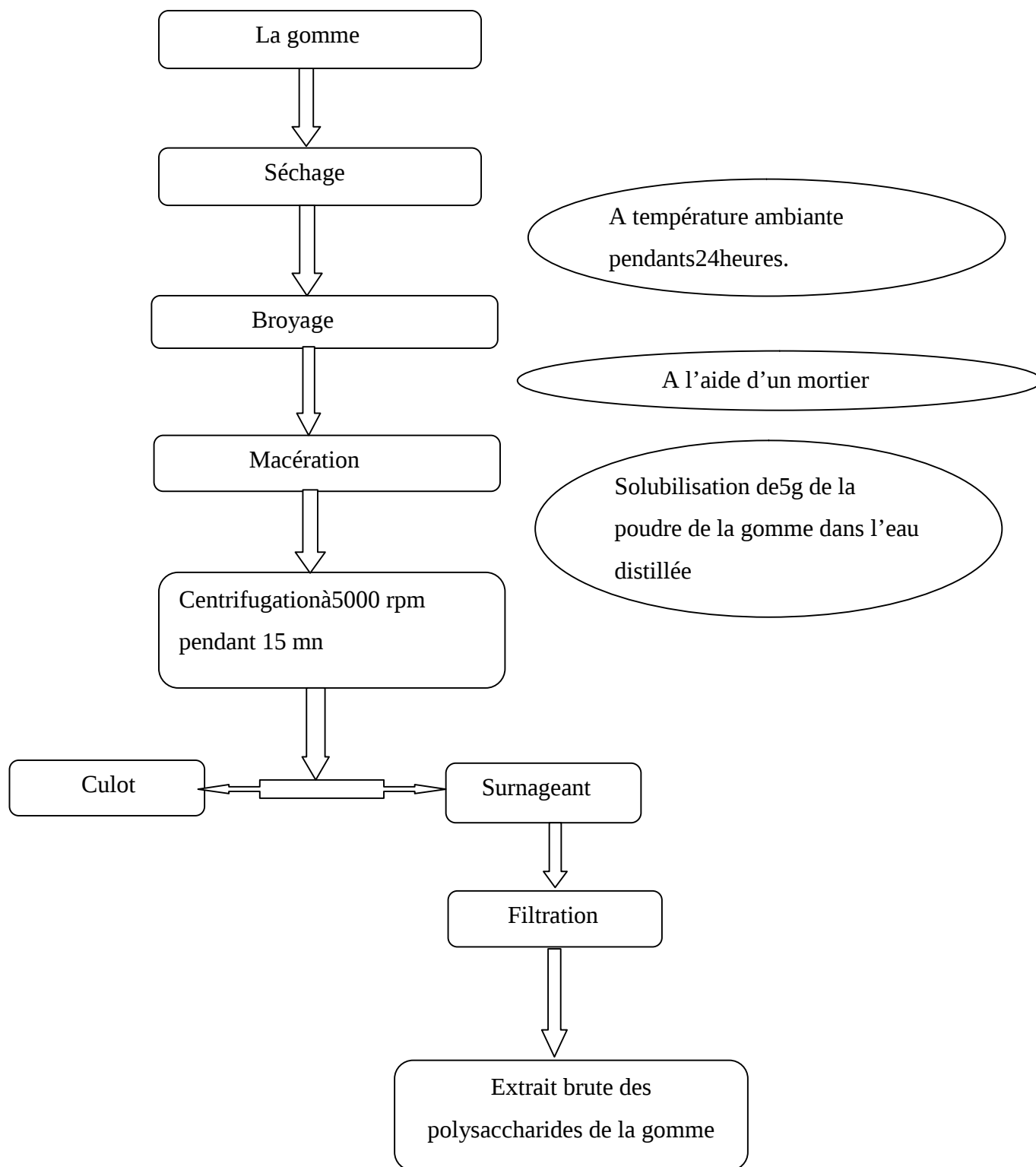
Figure 2 : Macération des trois extraits dans l'eau distillée

II.4. Centrifugation

Après macération, introduire 10 ml de solution obtenue dans des tubes de 15 ml, pour chaque extrait on a utilisé six tubes puis on les centrifuge à 5000rpm/25mn qui permet de séparer des constituants de taille et de masse très différentes contenus dans le liquide (l'eau).

II.5. Microfiltration

Les surnageant de chaque extrait sont filtrés à l'aide d'un filtre seringue stérile de 25µm de diamètre, dans un tube d'un volume de 15ml de l'extrait brute. Les trois extraits sont conservés dans un réfrigérateur à température +4°C.

**Figure 3 :** Les différentes étapes de l'extraction

III. Souches bactériennes

Les microorganismes testés sont des souches bactériennes conservées lors des études précédentes au niveau du laboratoire d'Ecologie Microbienne, aimablement fournies par l'équipe de Mr. DJOUDI. Au total, 22 souches ont été incluses dans l'étude, dont 12 souches des entérobactéries et 10 souches de *Staphylococcus aureus* (9 résistantes à la méthicilline).

Ces souches bactériennes ont été ré-identifiées par des méthodes microbiologiques standardisées (galerie biochimique) pour confirmation, au niveau de laboratoire de microbiologie. Les 22 souches utilisées sont données dans le Tableau III.

Tableau III : Répartition des souches étudiées

famille	Espèces	Nombres de souches	Codes de l'espèce
<i>Entérobactériaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	4	42036 ; 41929 42010 ; 42021
	<i>Salmonella Enterica</i>	1	9489
	<i>Proteus mirabilis</i>	1	8550
	<i>Acénitobacter baumanii</i>	2	8567 ; 42001
	<i>Enterobacter cloacea</i>	1	8554
	<i>Kleibseilla pneumonea</i>	2	42023 ; 42030
	<i>Bacillus</i>	1	1903
<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> résistante à la méthicilline (SARM)	9	942; 361 P41; 302 403; 810 8478; 443 8911
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	8566

III.1. L'identification des entérobactéries

L'identification des souches utilisées a été réalisée en se basant sur :

III.1.1 L'aspect morphologique

Faire fondre quelques flacons de la gélose Mac Conkey et EMB (Annexe 1) dans un bain marie et couler les boîtes de pétries sous la hotte. Laisser la gélose refroidir et ensemer les 12 souches par des stries séries à l'anse de platine sur la surface Des deux milieux. Après avoir stérilisé l'anse à chaque fois à la flamme du bec puis étuvées les boîtes à 37°C pendant 24 h pour voir l'aspect des colonies.

III.1.2 Caractères biochimiques

Ces caractères se basant sur des tests qui ayant servi à l'identification.

➤ Test TSI

Il permet de mettre en évidence pendant 24 heures les fermentations du glucose, lactose et du saccharose, la production d'hydrogène sulfuré (H₂S) et de gaz, après avoir préparé le milieu TSI (Annexe 1), les tubes ont été inclinés de façon à obtenir un culot de 3cm de hauteur et une pente oblique. Ensemer le culot du milieu par piqûre centrale et la pente en stries serrées, afin d'avoir une culture en nappe avec la souche bactérienne à tester puis incubé les tubes à 37°C pendant 24 heures.

➤ Test VP et RM

Le milieu Clark et Lubs (Annexe 1) permet de rechercher les voies fermentaires des entérobactéries et de différencier la fermentation « acides mixtes » et la fermentation « butylène glycolique ». On enseme le milieu Clark et Lubs à l'aide d'une anse de platine avec la souche bactérienne à analyser. Après avoir incubé à 37°C pendant 24 heures, après le milieu a été partagé en deux tubes : en ajoutant quelques gouttes du réactif VP1 et le même Volume du réactif VP2 dans le premier tube, la lecture s'effectue après quelques minutes, et en additionnant 2 à 3 gouttes de RM 1 et RM 2 dans le deuxième tube, La lecture est immédiate.

➤ Test d'indole

Le test est réalisé en introduisant dans de l'eau peptonée exempte d'indole (Annexe 1) quelques Colonies bactérienne à l'aide d'une anse de platine, incubé pendant 24 heures à 37 °C puis ajouter du réactif de Kovacs qui montre la production de l'indole qui se traduit par un anneau rouge en surface du milieu.

➤ **Test citrate**

Faire ensemencer toute la surface de la pente du milieu (annexe 1) avec des stries séries à l'aide d'une anse de platine stérilisée au bec, incuber à 37°C, pendant 18 heures.

➤ **Test nitrate**

On a ensemencé le milieu par quelques colonies des souches à tester. Après incubation des tubes à 37°C pendant 24 heures. On a ajouté une ou deux gouttes de réactif de Griess (NR1 et NR2) dans le bouillon nitraté cultivé.

III.2 Identification des Staphylocoques

Les souches à Gram positif utilisées ont été identifiées par l'étude de l'aspect macroscopique et des techniques microbiologiques standards (test de coagulase).

III.2.1 Aspect macroscopique

A partir d'une culture pure de la souche à étudier isolée sur milieu sélectif de Chapman (Annexe 1), sur lequel on a constaté un virage du milieu au jaune.

➤ **test coagulase**

Après avoir une suspension bactérienne sur le bouillon BHIB, On a mélangé dans un tube à hémolyse 0,5 ml de plasma dissous et 0,5 ml de la culture en bouillon du *staphylocoque* à tester puis, incubé pendant 24h à 37°C. Les souches de *staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma en un temps variant d'une demi-heure à 24 heures.

➤ **Antibiogramme par la Fox**

Ensemencer quelque colonie de *Staphylococcus aureus* sur gélose Muller Hinton par écouvillonnage, puis déposer le disque de fox au centre de la boîte, incubé à 30°C pendant 24 heures.

IV. Evaluation de l'activité antibactérienne

Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé de l'extrait de gomme, sur un tapis bactérien au tout début de sa croissance et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne d'extrait de gomme, est ainsi déterminé.

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de la gomme d'*Abie numidica*, *Prunus dulcis* et *Prunus armeniaca* a été évaluée par la technique de diffusion en disque selon la méthode décrite par **Sacchetti et al.,2005 et Celiktas et al.,2007**.

Les différentes espèces bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive (VRBL), puis incubées à 37°C pendant 24 heure. Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure ont été prélevées et transférées dans l'eau physiologique (0,9% de Na Cl).

Un prélèvement à partir de l'inoculum sert à ensemer de nouvelles boîtes de Pétri Contenant le milieu Mueller Hinton par la technique d'écouvillonnage. Des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre, stériles, chargés de 25µl d'extrait sont placés à la surface de la gélose, Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Les résultats sont exprimés en diamètres d'inhibition produite autour des disques.

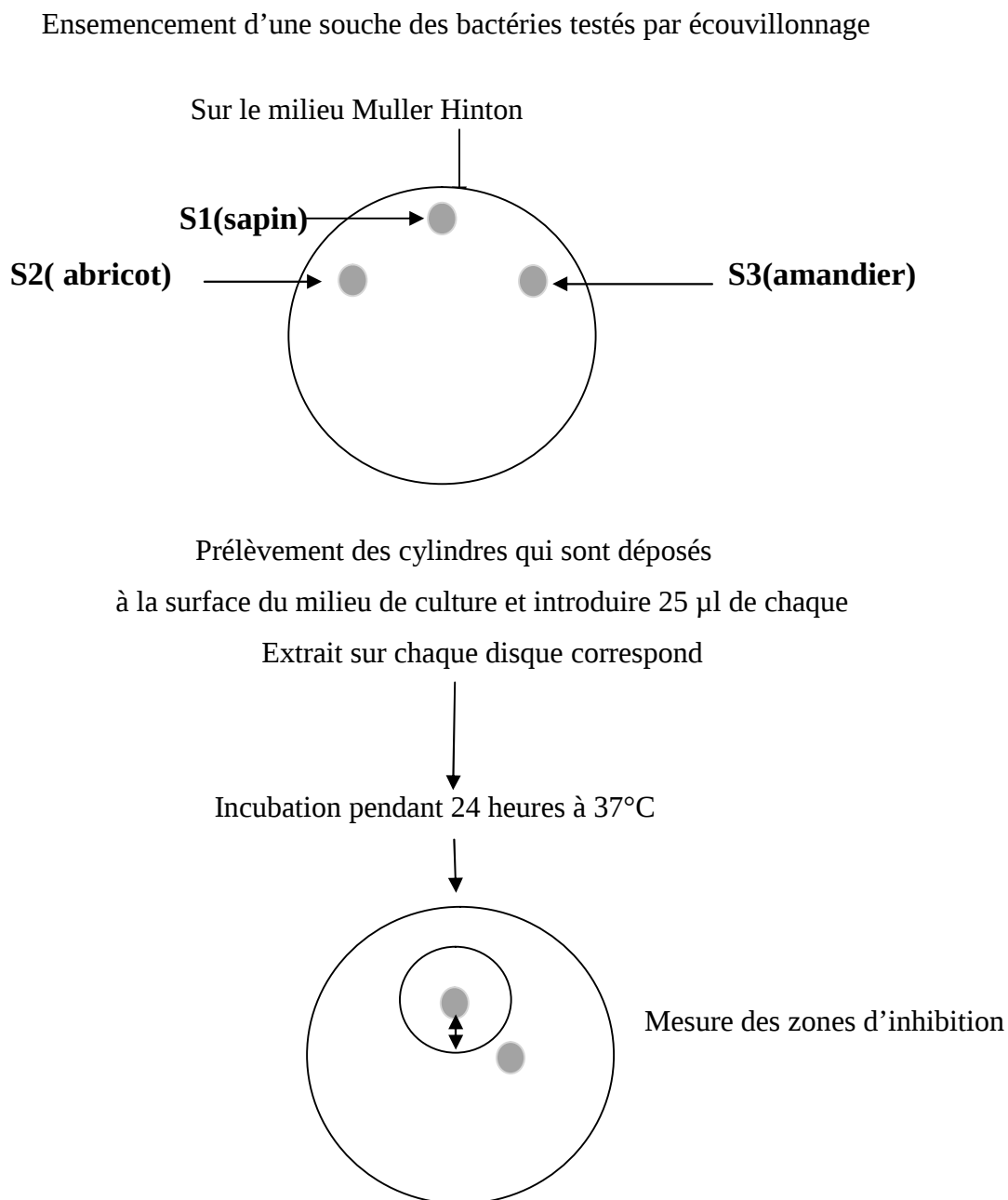


Figure 4 : Protocole du test d'activité

V. Détermination de la CMI

La détermination de la C.M.I avec la méthode de dilution peut être réalisée en milieu liquide ou solide, il est prudent d'introduire des souches de référence comme contrôles à chaque série de tests (**Eloff, 1998**). Dans notre étude on utilise la méthode de dilution en milieux liquide.

Cette technique permet la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) qui empêche la croissance d'un microorganisme après 24 heures d'incubation à 37°C dans un milieu de croissance non spécifique, et de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB), qui est la plus faible concentration de la substance antimicrobienne, laissant subsister moins de 0,01 % de survivants. La méthode utilisée est décrite par **Fawole et Kuete, 2009**, utilisant une microplaque de 96 puits.

En premier temps, avoir versé dans une série de tube à essai 5ml de bouillon Mueller Hintonensemencés par quelque colonie de chaque souche, ensuite Une gamme de concentrations de l'extrait ayant manifesté une activité, a été réalisée avec de l'eau distillée stérile suivant un gradient de concentrations décroissantes de raison géométrique (1/2, 1/4, 1/8, 1/16 ,1/32) à partir de la solution mère qui contient de 5ml d'eau distillée stérile et 5ml d'extrait. Dans un seconde temps, préparer une microplaque de 96 puits pour distribué les volumes d'extrait et le bouillon Muller Hinton dans chaque puits, 100 µl de chaque dilution sont transférés dans les puits de la microplaque, qui contiennent chacun 100 µl de milieu MHB inoculé avec quelque colonie de bactérie de chaque souche, bouillon Muller Hinton est utilisé comme un témoin positif, l'eau distillé stérile comme un témoin négatif, après 24 heures d'incubation à 37°C, la CMI de l'extrait de gomme est déduite à partir du premier puits de la gamme dépourvu de croissance bactérienne.

I. Résultats d'identification des entérobactéries.

Tableau IV : Caractères cultureux et biochimiques des entérobactéries sur gélose EMB.

Code de la souche	Caractères cultureux	Caractères biochimiques										Identification
		Glu	Lac	Sac	H ₂ S	Gaz	RM	VP	citrate	Indole	Nitrate réductase	
42036; 41929; 42010; 42021;	Colonies plat à centres opaque et reflet métallique verdâtre	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Escherichia coli</i>
9489 ;	Colonies transparentes, grise ambrées	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	<i>Salmonella enterica</i>
8550 ;	Colonies grisâtres avec une pellicule autour des colonies	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	<i>Proteus mirabilis</i>
8567 ; 42001 ;	petites colonies grises	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>Acinitobacter boumanii</i>
8554	grosses colonies, convexes, rosés avec un centre violet, muqueuses	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter cloacea</i>
42023 ; 42030 ;	Colonies muqueuses rosé à centre violet plus grande que les colonies habituelles	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
1903 ;	Petite colonies transparentes	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	<i>Bacillus</i>

Le signe (+) : signifie que la réaction du test a été positive.

Le signe (-) : signifie que la réaction du test a été négative.

II. Résultats d'identification des Staphylocoques

Tableau V : Résultats d'identification des staphylocoques

Code de la souche	Caractères cultureux	Catalase	Coagulase	Sensibilité à la méthicilline	Identification
942 ;	Grappe de raisin, Colonie lisse bombée Pigmentation jaune dorée, Fermentation du mannitol.	+	+	R	SARM
361 ;		+	+	R	SARM
P41 ;		+	+	R	SARM
302 ;		+	+	R	SARM
403 ;		+	+	R	SARM
810 ;		+	+	R	SARM
8478 ;		+	+	R	SARM
443 ;		+	+	R	SARM
8911 ;		+	+	R	SARM
8566 ;		+	+	S	SASM

SASM : Staphylococcus aureus sensible à la méthicilline.

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline.

III. L'extraction

Le test d'extraction permet de récupérer l'extrait brute de gomme d'*Abie numidica*, *Prunus armeniaca* et *Prunus dulcis*, ce qui est présentée dans la figure (5).



Figure 5 : L'extrait brute de gomme d'*Abie numidica* , *prunus dulcis* et *prunus armeniaca*

Le taux d'extraction a été déterminé par rapport à 5g de matière végétale (broyat). C'est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant (eau distillée) et la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que : la période de récolte de la plante, l'âge de la plante, la procédure de séchage, le solvant, la température.

IV. Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait de gomme

Les résultats des tests antibactériens de trois extraits de gomme sur les différentes souches bactériennes étudiées sont présentés par des photographies, la présence d'activité vis-à-vis des extraits se traduit par des zones d'inhibitions, les résultats sont indiqués dans le tableau :

Tableau VI : Résultats du test d'activité

L'espèce	S1 (Sapin)	S2 (Abricot)	S3 (Amandier)
<i>Acinetobacter baumannii</i> 8567	+ (13 mm)	+ (12 mm)	+ (11mm)
<i>Proteus mirabilis</i> 8550	—	—	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 42023	—	—	—
<i>Escherichia coli</i> 41929	+ (10 mm)	+ (11 mm)	+ (11mm)
<i>Salmonella enterica</i> 9489	+ (9 mm)	+ (10 mm)	+ (10 mm)
<i>Escherichia coli</i> 42036	+ (9 mm)	+ (10 mm)	—
<i>Acinetobacter baumannii</i> 42001	—	+ (12 mm)	—
<i>Enterobacter cloacae</i> 8554	—	—	—
<i>Escherichia coli</i> 42021	+ (11 mm)	—	—
<i>Escherichia coli</i> 42010	+ (12 mm)	+ (11 mm)	+ (11 mm)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 42030	—	—	—
<i>Bacillus</i> 1903	—	—	—
SARM 942 S2	—	—	—
SARM 361 S2	+ (11 mm)	—	—
SARM P41	—	—	—
SARM 302	—	—	—
SARM 403	—	—	+ (8 mm)
SARM 810	+ (8 mm)	+ (10 mm)	+ (9mm)
SASM 8566	—	—	—
SARM 8478	+ (7 mm)	+ (15 mm)	+ (11 mm)
SARM 443	—	+ (12 mm)	+ (12 mm)
SARM 8911	—	+ (8 mm)	+ (10 mm)

(-) : correspond à une absence d'activité inhibitrice.

(+) : correspond à une présence d'activité inhibitrice.

Les résultats obtenus à partir des tests d'activité des extraits de gomme indiquent une sensibilité variante d'une souche bactérienne à une autre. Cette sensibilité se traduit par une zone d'inhibition, les diamètres de zones d'inhibitions sont indiqués en mm.

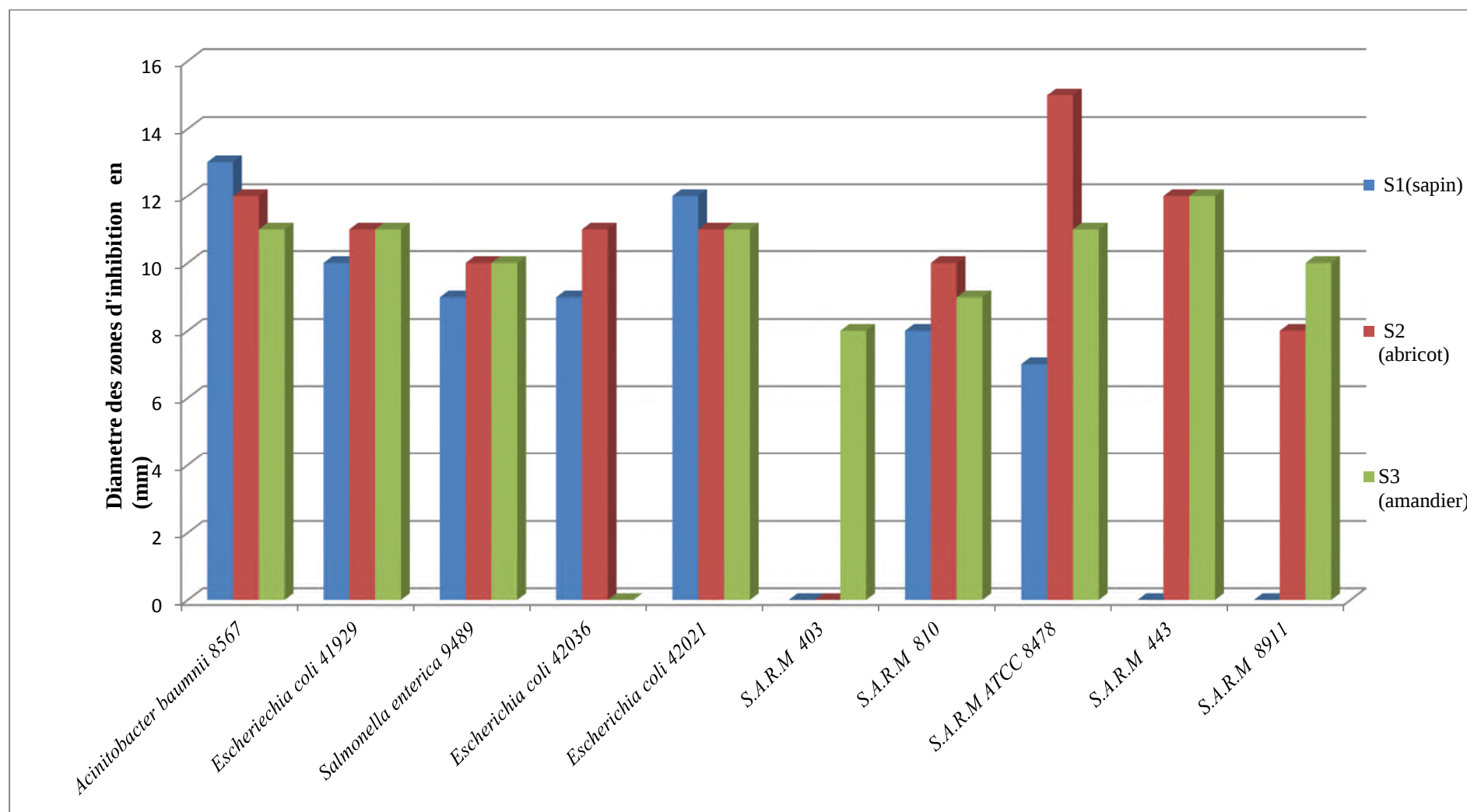


Figure 6 : Histogramme comparatif de la sensibilité de quelques souches bactérienne testées à l'extrait de gommres d' *Abie numidica*, *Prunus armeniaca* et *prunus dulcis*.

A la suite de ces résultats, les extraits de gomme d'*Abie numidica*, de *prunus armeniaca*, et *prunus dulcis* ont montré une activité antibactérienne faible sur la plupart des souches bactériennes utilisées (diamètre d'inhibition <15 mm). Selon **Ali et al., (2008)**, L'activité antibactérienne détectée est probablement due à la présence de polysaccharides, donc Ce composé a des propriétés antibactériennes connues, sa présence pourrait donc expliquer les propriétés antimicrobiennes observées.

Les résultats montrent que ces extraits sont actifs sur certaines souches testées ce qui en accord avec les études menées par **Thangara et al., (2000)**, une sensibilité variante sur toutes les espèces testées peut être dû au mode d'extraction et la concentration en principes actifs, et surtout de la nature des bactéries Gram+ ou Gram – (**Benyagoub et al., 2016**), dans leur travail Le pouvoir antibactérien de l'extrait aqueux à base de la gomme a montré que l'apparition des zones d'inhibition est proportionnellement liée à l'augmentation de la concentration de l'extrait aqueux, ce qui concorde avec nos résultats.

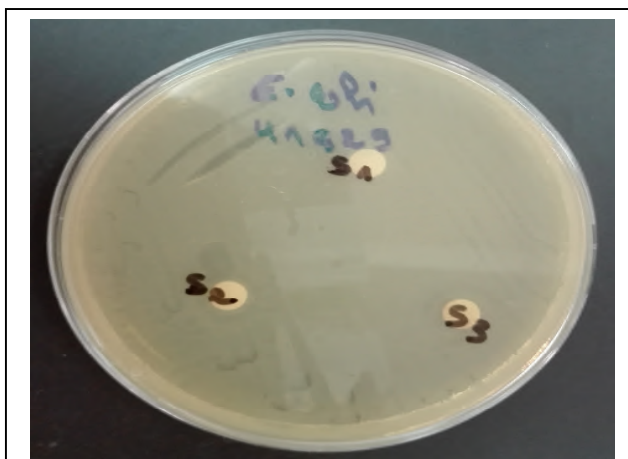
L'analyse des résultats de cette étude nous ont permis de déduire que l'extrait aqueux à base de gomme de (*Abie numidica*, *Prunus armeniaca*, *Prunus dulcis*) testé possède un effet antibactérien non négligeable.

Rojas et al, (1992) ; Marjorie, (1999) ont montrés que, L'activité antibactérienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, les flavonoïde et les triterpénoïdes ainsi que d'autres composés de nature phénolique qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs, ce qui est diffère avec notre études qui a été réalisé sur l'activité antibactérienne de gomme qui est due principalement au molécule existant dans l'extrait, présenté sous forme de polysaccharides. Ces composés inhibent la croissance de certaines bactéries pathogènes qui provoque les infections humaines.

Des études plus récentes de **Peyron et Richard (1992)**, que l'extrait aqueux laisse prévoir leur application en médecine traditionnelle qui est basée sur l'utilisation des plantes médicinales comme un remède naturel pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire de milliers de composés naturels.

L'étude réalisée dans ce travail sur l'activité antibactérienne de l'extrait de gomme d *Abie numidica*, *Prunus armeniaca* et *Prunus dulcis* permet de déduire que cette gomme a un effet considérable sur quelques souches testées.

➤ Les Entérobactéries



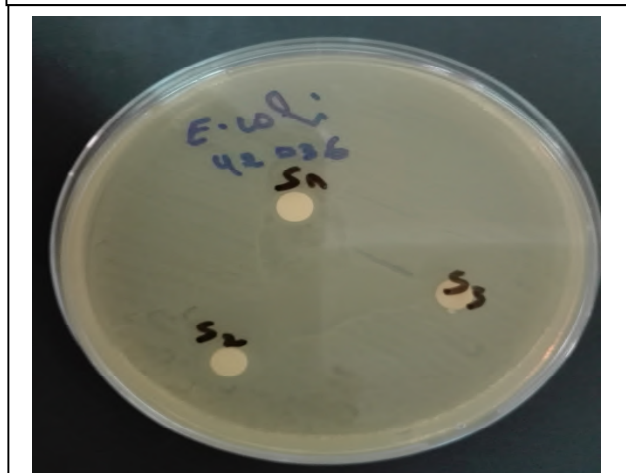
Escherichia coli 41929



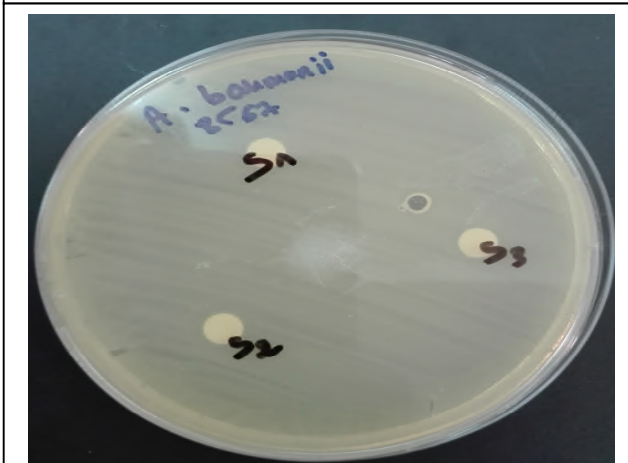
Escherichia coli 42010



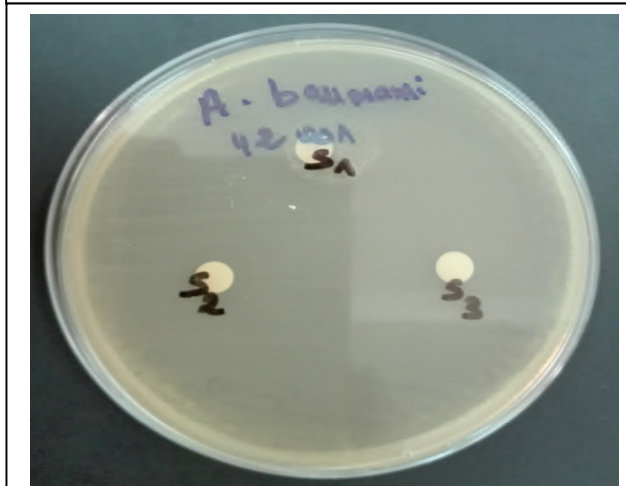
Escherichia coli 42021



Escherichia coli 42036



Acinetobacter baumannii 8567



Acinetobacter baumannii 42001

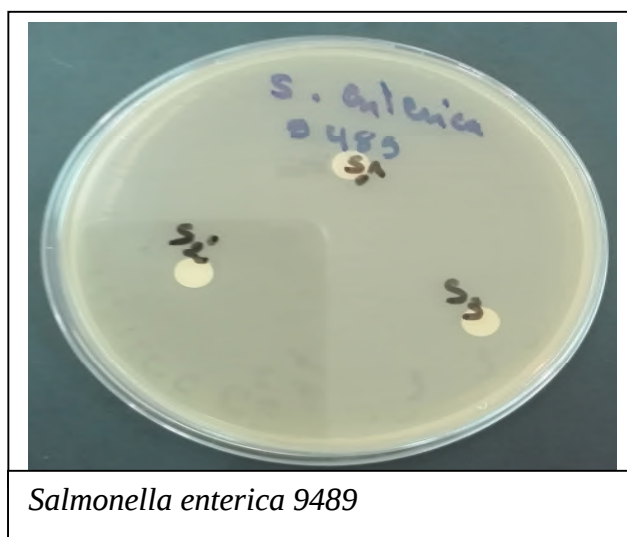


Figure 7 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait de gomme d'*Abie numidica*, *Prunus armeniaca* et *Prunus dulcis* sur les entérobactéries.

➤ *Staphylococcus aureus*



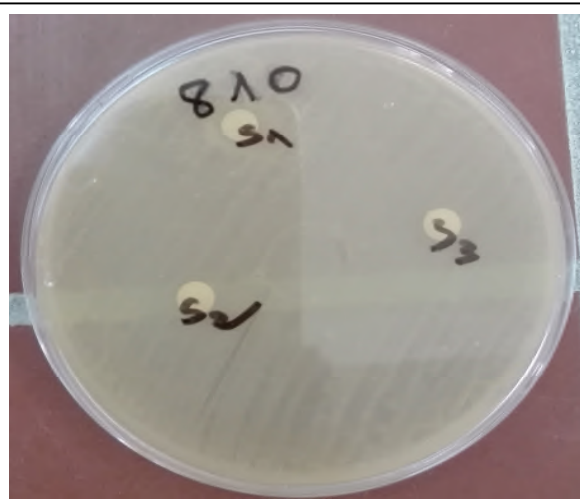
SARM 8911



SARM 403



SARM 443



SARM 810

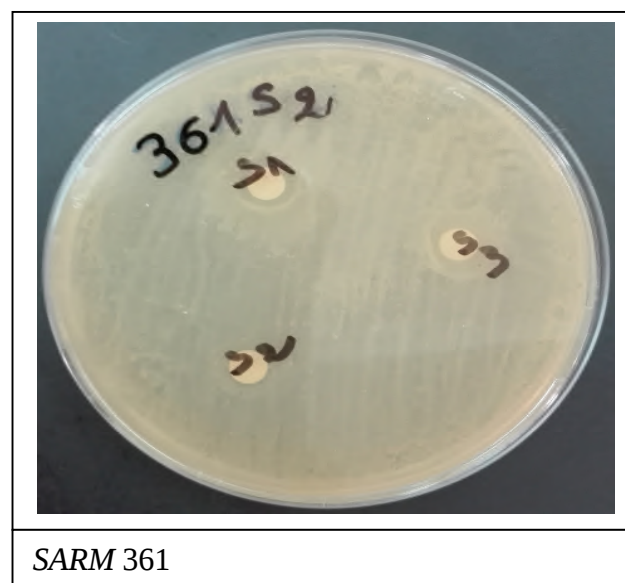
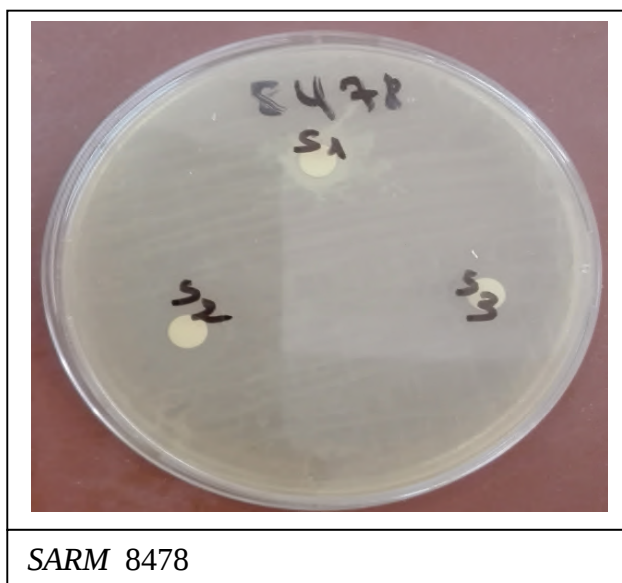


Figure 8 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait de gomme d'*Abie numidica*, *Prunus armeniaca* et *Prunus dulcis* sur *Staphylococcus aureus*.

V. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) du S1 (extrait de gomme d'*Abie numidica*,)

La CMI a été déterminée pour l'extrait de gomme d'*Abie numidica* après avoir augmenté sa concentration (5g dans 50 ml), à partir d'une série de dilutions de la solution d'extrait de gomme mère (5ml d'extrait + 5ml d'eau distillée), et la CMI trouvées c'est dans la dilution 1/16 tel que dans la microplaque en prendre la dernière valeur ou' il y' pas la croissance, les résultats ont été consignées dans le Tableau XIII.

Tableau XIII : Résultats de la concentration minimal inhibitrice d'extrait de gomme (d'*Abie numidica*).

dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	Extrait pure	Souche pure
9489	—	—	—	—	+	—	+
2001	—	—	—	+	+	—	+
42010	+	+	+	+	+	—	+
42036	+	+	+	+	+	—	+
8567	—	+	+	+	+	—	+
403	—	+	+	+	+	—	+
810	—	+	+	+	+	—	+
8478	+	+	+	+	+	—	+
8511	—	—	—	+	+	—	+
443	—	—	+	+	+	—	+

(-) : signe d'absence de croissance.

(+) : signe de présence de croissance.

Les résultats de la CMI de l'extrait de gomme d'*Abie numidica*, montrent qu'il y a une inhibition de croissance de quelques souches testées, le test sur ces extraits de gomme sur une microplaque permet de déduire une présence des effets vis-à-vis les bactéries Gram positive et Gram négatif (figure 9).

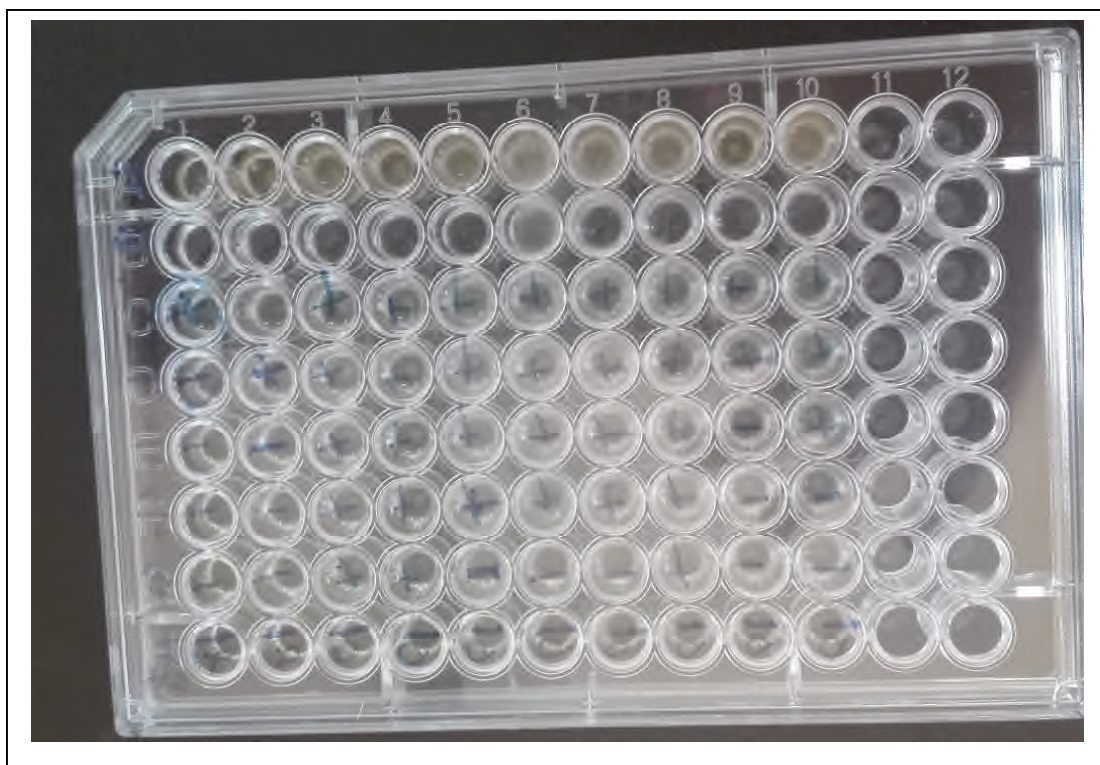


Figure 9 : Résultats de la CMI sur la microplaque.

Conclusion

Dans cette étude qui avait pour but d'évaluer in-vitro l'activité antibactérienne des extraits aqueux de gomme de trois arbres sur des Entérobactéries et des *Staphylococcus aureus*, il ressort que :

- Certaines souches étudiées ont été sensibles à l'extrait aqueux de gomme et d'autres ont été résistantes.
- La détermination de la sensibilité des souches aux différents extraits dépend des concentrations des extraits et les souches étudiées.

La sensibilité de certaines souches à l'extrait aqueux de gomme revêt une grande importance dans le traitement des pathologies qui leur sont associées, car ces souches présentent des résistances élevées vis-à-vis des antibiotiques utilisés en pratique courante. Cette étude permet de justifier le bien fondé des vertus antimicrobiennes accordées à cette plante.

À travers les résultats obtenus, il a été démontré que la gomme largement utilisée en médecine traditionnelle par la population ciblée par l'étude, possède un potentiel antibactérien moyen. Par conséquent, elle pourrait fournir la source de candidats médicaments biologiquement actifs et peut donc être un agent thérapeutique en prévenant ou en guérissant les maladies infectieuses.

En terme de perspectives et Pour une meilleure évaluation des activités biologiques : (activité antibactérienne), il serait intéressant de :

- Purifier l'extrait polysaccharidique, afin de préciser les parties responsables des effets remarquables.
- Une analyse structurale par, spectrométrie de masse SM et par la résonance magnétique RMN est recommandée pour établir une relation structure fonction entre l'extrait et les activités signalées.
- Réaliser l'extraction par des solvants organiques.

A

- AHMED A.A., FEDAIL J.S., MUSA H.H., MUSA T.H and SIFALDIN A.Z. (2016).** Gum Arabic supplementation improved antioxidant status and alters expression of oxidative stress gene in ovary of mice fed high fat diet. Middle East Fertility Society Journal, vol. 21:101–108.
- Ali AA., Ali KE., Fadlalla A., Khalid KE. (2008).** The effects of GA oral treatment on the metabolic profile of chronic renal failure patients under regular haemodialysis in Central Sudan. *Natural Product Research*, 22(1) : 12-21.
- Aissa-Baba F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles, flore d’Algérie et du Maghreb, Substances végétales d’Afrique, d’Orient et d’Occident. EDAS Algérie.
- Arrif S.(2009).** Etude des metabolites secondaires de deux scrophulariacees du genre *Verbascum*: *V. ballii* et *V. dentifolium*. These de Doctorat en Sciences. Universite El Hadj Lakhdar- Batna. Faculte des Sciences. Departement de Chimie. 172 p.
- ABHIJIT A et al. (2013).** Study of urinary isolates with reference to extended spectrum beta lactamases detection and antibiogram. Vol 2, Issue 9, p1052.

B

- Bennadja, S. and Tlili Ait Kaki, Y. (2013).** The Fir of Numidia: A Threatened Species. Kastamonu. Univ., J. Forest. Fac., Special Issue: 283-286.
- Brenner D.J.(1984).***Enterobactereaceae*.In :Krieg N.R.and Holt J.G.Bergey ‘s manual of systematic bacteriology.williams and wilkins,baltimore,vol.1,408-516.
- BAKHOUM I. (2004).** Contrôle de qualité et validation de différent micro méthodes d’identification bactérienne. Université Cheikh Anta diop de Dakar. Faculté de médecine, de pharmacif. Et d’odontostomatologie.
- BOURJILAT M. (2009).** Etude prospective de la résistance chez E. coli dans l’hôpital de Meknès. Maroc. Eline. Microbial. Rev. 22, p 120-123.
- Bouquet A. (1969).** *Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville)*. Mémoires O.R.S.T.O.M. Paris.
- Blumenthal Dir. (1998).** The Complete German Commission E Monographs. American Botanical Council, Texas, pages 223-224.
- Bouguerra M. (2012).** Etudes de l’activité biologique de l’huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* MILL. Enrue de son utilisation conservatrice alimentaire. Thèse Magister. Biotechnologie. Université Montsouris, contiens p14-38.

BOUSSEBOUA H. (2002). : élément de microbiologie générale. Université Montsouris. Contiens, pp 31 -170.

Bekhechi C, Atik-Bekkara F, Abdelouahid DE.(2008). Composition and antibacterial activity of the essential oils contained in Algerian *Origanum glandulosum* (Desf.). *Phytotherapy* 6(3): 153–9.

C

Celiktas O., Hames E., Bedir E., Vardar S.(2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis* depending on location and seasonal variations. *Food Chemical*, 100: 553-559.

CARBONNELLE B., DENIS F., MARMONIER A., PINON G et VARGUES R. (1987). Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. S.I.M.E.P. S. A., Paris, p 121-137; 146-155.

Costeron J.w.,Irvin R.T.5,(1981).The bacterial glycocalyx . In: nature and disease . Ann. Rev. Microbiol .35:299-324.

D

Duckrey M. (1998). Aspects ecophysiologiques de la réponse et de l'adaptation des sapins méditerranéens aux extrêmes climatiques : gelée printanières et sécheresse estivale. Forêt méditerranéenne t.XIX, n°2.

Dauqan E., Abdullah A. (2013). Utilization of gum arabic for industries and human health. *American Journal of Applied Sciences*, 10(10): 1270-1279.

DRAME B. (2001). Microméthode d'identification et l'étude de la sensibilité des entérobactéries: intérêts thérapeutique. Thèse pharm. Université Dakar, n ° 86.

E

Eloff, J N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med* 64:711–713.

Elhassan BENYAGOUB*, Amina BOULANOUAR, Meriem SOUID AHMED, Nouria NEBBOU & Ahmed BOULOUBA. (2016). Essai d'évaluation de l'activité antibactérienne de la gomme arabique d'*Acacia tortilis* (Forssk) contre quelques souches bactériennes pathogènes, *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 85, 2016, p. 237 – 252.

F

Fawcett, H.S. (1936). Citrus diseases and their control. - 2e édition, McGraw-Hill Book Co., New York, 656 p.

FAWOLE O.A., FINNIE J.F., VAN STADEN J. (2009). Antimicrobial activity and mutagenic effects of twelve traditional medicinal plants used to treat ailments related to the gastro-intestinal tract in South Africa. *South African Journal of Botany*, **75** (2), pp. 356-362.

FRENEY J, RENAUD P, LECLERCQ R et RIEGL P. (2007). Précis de bactériologie clinique. 2^{ème} Ed ESKA. p153 et 1012 1013.

G

Garnier F, Denis F. (2007). Bactériologie médicale : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson. Chapitre 29 .251, 254.

GAYE C. S. (1988). Comportement de *Acacia senegal* en plantation et dans la nature au Sahel sénégalais. Perspectives d'avenir des reboisements gommiers. In Sygga III, actes du troisième symposium sous-régional sur le gommier et la gomme arabique, Saint-Louis, Sénégal, 25-28 octobre 1988 : 139-169.

H

Hopley, L. et Schalkwyk J. V. (2006). "Mechanism of resistance to antimicrobials. <<http://www.anaesthetist.com/icu/infect/Findex.htm#resist.htm>>(page retrouvée le 13 septembre 2010).

J

Jones, N. P. , Arnason, J. T. , Abou-Zaid, M. , Akpagana, K. , Sanchez-Vindas, P. et Smith, M. L. (2000). "Antifungal activity of extracts from medicinal plants used by First Nations Peoples of eastern Canada", *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 73, no 1-2, p. 191-198.

Joffin J. N. et Leyral G. (2006). Microbiologie technique, Tome1 : Dictionnaire des techniques, 4e édition. Edition CRDP d'aquitaine.

Jean bretandeu.(1979). Atlas d'arboriculture fruitière ; vol III, paris ; p 164-167.

K

KUETE V., MBAVENG A.T., TSAFFACK M., BENG V.P., ETOA F.X., NKENGFACK A.E., MEYER ;J.J., LALL N. (2008). Antitumor, antioxidant and antimicrobial activities of *Bersamaengleriana* (Melianthaceae). *Journal of Ethnopharmacology*,115, pp.494-501.

KUCK L.S and NORENA C.P.Z.(2016).Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, vol. 194: 569-576.

L

Lefèvre, M., Luneau, P., Edin, P., Lichou, J., Soing, P., Minodier, R., Audergon, J.M., and Vigouroux, A. (1999). Le dépérissement bactérien de l'abricotier. *Infos CTIFL* 152, 38–41.

Liu T.S.(1971). A monograph of the genus *Abies*. Dep. of For. Colleg of National Taiwan Univ.508P.

Lamichhane, J.R., Varvaro, L., Parisi, L., Audergon, J.M., and Morris, C. (2014). Disease and frost damage of woody plants caused by *Pseudomonas syringae*: seeing the forest for the trees. *Advances in agronomy* 126, 235-295.

Larpent J.P., Larpent-Gourgaud M. (1985). *In : élément de microbiologie.Hermen,* paris.

M

Marjorie M. C. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 564-582.

P

PIERRE, MARIE CURIE. (2002-2003). Bactériologie. DCEM1. Université Paris-VI. Faculté de médecine Pitié-Salpêtrière.

PHILIPPON A. (2000). Cours de bactériologie général : Entérobactéries. Faculté de médecine Cochin-Port-Royal Paris, France.

Peyron L., Richard H., Peyron L., Richard H. (1992). L'extraction des épices et herbes aromatiques et les différents types d'extraits. In Richard H (coordonnateur) *Epice et Aromates*. Tec et Doc–Lavoisier, Paris.

R

Rehder, A. (1949). Bibliography of cultivated trees and shrubs hardy in the cooler temperate regions of the Northern Hemisphere, 270.

Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., Mata R. (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacology*. **35** : 275-283.

S

Schmitt C. (2000). Etude de la coacervation complexe entre la β -lactoglobuline et la gomme arabique en solution aqueuse. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, 217 p.

Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Mansredini S., Radice M. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobial in food. *Food Chemistry*, 91: 621-632.

SINGLETON P. (1994). Abrégés de bactériologie. Ed Masson, Paris. p122.

Thangara J. H. S., Adjei O., Allen B. W., and Portaels F., In-vitro activity of ciprofloxacin, sparfloxacin, ofloxacin, amikacin and rifampicin against Ghanaian isolates of *Mycobacterium ulcerans*. *Journal Antimicrobial Agents Chemoter*, 45 (2), (2000), 231-233.).

V

VANDERWEYEN, A.(1966). Phytophthora yringae sur agrumes au Maroc. - Al-Awamia, 18, pp. 31-34.

Vigouroux, A., and Bussi, C. (1994). Une action possible des sols sur la prédisposition des pêchers au dépérissement bactérien par modification de la teneur en eau hivernales des tiges. *Agronomie* 14, 319–326.

Vigouroux, A. (1999). Le dépérissement bactérien de l'abricotier. *Infos CTIFL* 152, 38–41.

Y

Young, J.M. (1987). Orchard management and bacterial diseases of stone fruit. *New Zealand Journal of experimental agriculture* 15, 257–266.

Références bibliographiques

Yilmaz, K.U., and Gurcan, K. (2012). Genetic diversity in apricot. In *Genetic Diversity in Plants*, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), ISBN: 978-953-51-0185-7, 249-270.

Annexe 1 : Matériel, réactifs et produits utilisés

➤ Matériel et réactifs utilisés

Matériel	Réactifs
Anse de platine	Vp
Autoclave	RM
Bain-marie	Kovacs
Balance	NR 1
Barreau magnétique	NR 2
Bec bunsen	
Boîtes de pétri	
Centrifugeuse	
Etuve	
Filtre	
Four pasteur	
Hotte	
Micropipette	
PH mètre	
Réfrigérateur	
Spatule de laboratoire	
Tubes à essai	
Vortex	

➤ **Les Milieux de culture utilisés**

Milieu de culture	Composition	PH
Mac Conkey	Peptones de viande Chlorure de sodium Lactose Cristal violet Sels biliaires Rouge neutre	7,2 ± 0,2 à 25° C
Éosine méthylène –Blue lactose agar (EMB)	Peptone Lactose Eosine Bleu de méthylène Hydrogénophosphate de potassium Agar	7,2 ± 0,2 à 25° C
Triples Sugar Iron (TSI)	Tryptone Extrait autolytique de levure Extrait de viande Glucose Lactose Saccharose Chlorure de sodium Thiosulfate de sodium Citrate ferrique ammoniacal Rouge de phénol Agar agar bactériologique	7,4 ± 0,2 à 25 °C
Citrate de Simmons	Phosphate Chlorure de sodium Citrate de sodium Sulfate de magnésium BBT Agar	6,9 ± 0,2 à 25° C

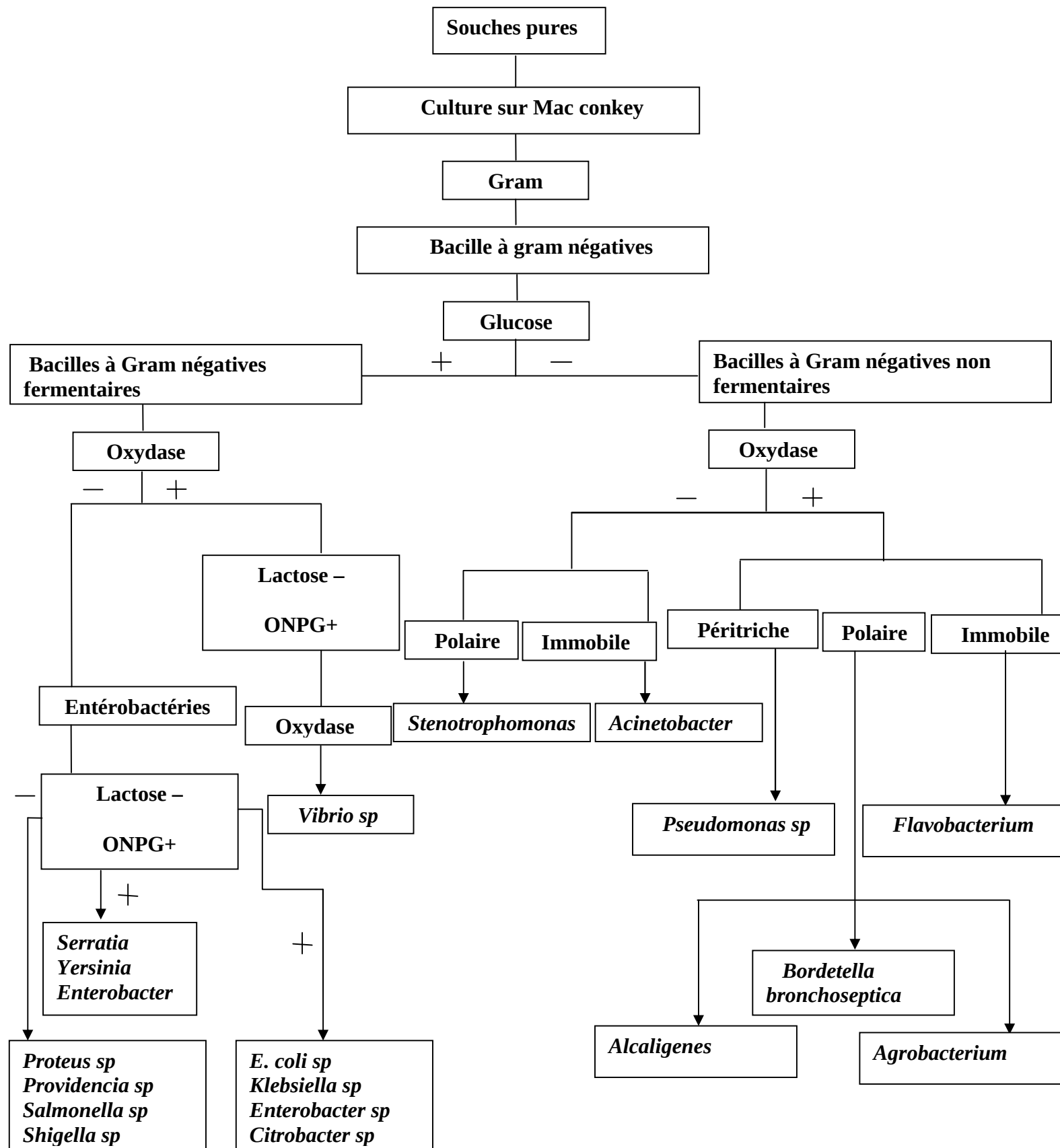
Annexe

Chapman	Peptone Extrait de levure Lactalbumine Chlorure de sodium Mannitol Rouge de phénol Chlorure de lithium Glycine Pyruvate de sodium Agar	7,5 ± 0,2 à 25° C
Clark et Lubs	Peptone tryptique Glucose Phosphate bipotassique	7,2 ± 0,2 à 25° C

➤ **Les bouillons utilisés**

bouillon	Composition	PH
Bouillon nitrate	Infusion de cœur cervelle Nitrate de sodium	7,2 ± 0,2 à 25° C
Eaux peptonée exempte d'indole	Peptone Tryptone Chlorure de sodium	7,2 ± 0,2 à 25° C
Muller Hinton	Hydrolysate acide de caséine Infusion de viande Amidon	7,4 ± 0,2 à 25 °C
Bouillon cœur-cervelle (BHIB)	Extrait cœur-cervelle Peptone pancréatique de gélatine Chlorure de sodium Phosphate disodique Glucose	7,4 ± 0,2 à 25°C

Annexe 2 : Algorithme d'identification des principaux genres de bacilles à Gram négatives



Annexe 3 : Principaux caractères biochimiques différentiels des genres et espèces d'Entérobactéries rencontrés fréquemment en pathologies humaines. (D'après Le Minor et Richard ,1993).

	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Levinea</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus morganii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
Mobilité	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Teste ONPG	-	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	+	+
H ₂ S	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
LDC	+	-	-	d	-	+	-	+	-	-	-	-	-
ODC	+	-	+	d	d	-	+	+	-	+	+	+	-
ADH	-	-	d	d	d	-	+	-	-	-	-	-	-
Uréase	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
TDA, PDA	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Indole	-	-	+	+	d	-	-	-	+	-	+	d	-
Citrate de Simmons	+	+	+	-	-	+	+	d	d	d	-	-	-
Malonate	-	-	d	-	-	+	+	d	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	+	+	+	-	d	-	d	-
TTR	+	+	d	-	-	-	-	d	+	+	+	d	-
Gélatinase	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Gaz/Glucose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
Mannitol	+	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	+	+
Rhamnose	+	+	+	d	d	+	+	+	-	-	-	-	+
Saccharose	-	d	d	d	-	+	+	-	+	d	d	+	-
Arabinose	+	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	+	d
Inositol	d	-	-	-	-	+	d	-	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	d	-	-	+	d	-	-	-	-	-	-
Galacturonate	-	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	+	d

+ : positif en 1 et 2 jour

- : négatif

d : différents types biochimiques

TTR :tétrathionate-réductase

ONPG : orthonitrophényl-β-D-galactopyranoside

VP : réaction de voges-proskauer

TDA, PDA : désaminase du tryptophane et de la phénylalanine

LCD : lysine-décarboxylase

ODC : ornithine-décarboxylase

ADH : arginine-dihydrolase

Résumé

Les échecs thérapeutiques et les coûts de plus en plus élevés des traitements des infections dues aux bactéries appellent à trouver d'autres alternatives de soins. La présente étude a été initiée dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de gomme de *Prunus armeniaca*, *Prunus dulcis* et *Abies numidica*, récolté de la région de Kherrata wilaya de Bejaia , sur des souches d'entérobactéries, de *Staphylococcus aureus* et les *Staphylococcus aureus* résistante à la méthécilline (SARM). Les méthodes de la diffusion en milieu gélosé et en milieu liquide ont été utilisées pour le test d'activité et la détermination de la CMI. Les différents tests ont été effectués sur vingt deux souches de laboratoire. Les résultats obtenus présentent l'apparition d'une sensibilité variante d'une souche bactérienne à une autre qui se traduit par l'apparition des zones d'inhibition dont le diamètre diffère d'une bactérie à une autre et d'une concentration à une autre et à travers les résultats obtenus, il a été démontré que la gomme a une activité antibactérienne faible vis-à-vis les entérobactéries et les Staphylocoques.

Mots clés : activité antibactérienne, Gomme, Entérobactéries, *Staphylococcus aureus*, SARM, CMI.

Abstract

Therapeutic failures and the rising costs of treating infections caused by bacteria call for alternative care alternatives. The present study was initiated in order to evaluate the antibacterial activity of the aqueous *Prunus armeniaca* gum extract, *Prunus dulcis* and *Abies numidica*, harvested from the Kherrata wilaya region of Bejaia, on enterobacteria strains. of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). The methods of diffusion in agar medium and in liquid medium were used for the activity test and the determination of the MIC. The different tests were performed on twenty two laboratory strains. The results obtained show the appearance of a variant sensitivity of one bacterial strain to another which results in the appearance of the zones of inhibition whose diameter differs from one bacterium to another and from a concentration to one other and through the results obtained, it has been shown that the gum has a weak antibacterial activity with respect to Enterobacteriaceae and Staphylococci.

Key words: antibacterial activity, Gum, Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*, MRSA, MIC.

Introduction

Chapitre I
Synthèse bibliographique

Chapitre II
Matériel et méthodes

Chapitre III
Résultats et discussions

Conclusion

*Référence
bibliographique*

Annexe