

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'étude en vue d'obtention
du diplôme de Master en Biologie

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie-Bactériologie

Thème :

**Isolement, identification et profil de résistance de germes
isolés à partir de différents sites de prélèvements et
l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents
extraits d'une plante médicinale *Inula viscosa L.***

Présenté par :

EZZEROUG Chaimaa

OUCIF Saliha Noufila

Devant le jury composé de :

Présidente	Mme BOKRETA S.	MAA	Université Blida 1
Président	Mr BOUKHATEM M.N	MCA	Université Blida 1
Promotrice	Mme HAMAIDI F.	MCA	Université Blida 1
Co-promotrice	Mme Ouahchia C.	Doctorante	Université Blida 1

Année universitaire : 2016 - 2017

Remerciements

Louanges à Dieu qui nous a donné l'esprit, la volonté, le courage et le savoir pour réaliser ce travail.

La réalisation de ce mémoire fut une occasion merveilleuse de rencontre et d'échange avec de nombreuses personnes. Toutes ont contribué à des degrés divers de la conception à la finalisation de ce travail de recherche. Nos dettes de reconnaissance, à ce point de vue, énorme à leurs égards.

On pense particulièrement à Mme HAMAIDI pour avoir accepté de diriger ce travail et dont les conseils, la sollicitude et les encouragements nous ont permis de mener ce mémoire à terme

On tient à remercier Mme OUAHCHIA pour son aide, ces suggestions ainsi que sa disponibilité.

Nous tenons également à remercier Mme BOKRETA d'avoir accepté de présider le jury, ainsi que Mr BOUKHATEM d'avoir examiné ce travail.

Nous sommes très reconnaissantes au Pr CHERGUE ELAIN Directeur du laboratoire central de l'EHS El Kettar, également à Mme BENADDA pour sa précieuse aide sans la quelle nous n'aurions jamais pu accomplir ce travail, ainsi qu'au Pr NAIM de nous avoir ouvert les portes de son laboratoire.

Nous remercions aussi le Pr CHADER responsable du Laboratoire Nationale de Contrôle de Produits Pharmaceutique à Dely Ibrahim ainsi que tous les membres du personnel de l'unité in vivo au niveau du LNCPP, merci à eux de nous avoir acceptés au sein de leur équipe durant nos deux mois de stage.

Une pensée particulière Mr TEFAHI, Mr ABDELBASSET et Mr MUSTAPHA qui ont fait de leur mieux pour nous faciliter l'accomplissement de ce travail.

A tout nos enseignant, particulièrement Mr KAIS pour nous avoir aidé et orienté en microbiologie.

Nous espérons du fond du cœur que tout ce petit monde trouve ici un mot de reconnaissance en ce qui le concerne. Nous espérons aussi que l'effort déployé dans le présent travail réponde aux attentes des uns et des autres..



Dédicaces

A ma très chère mère qui est mon pilier dans la vie, qui m'a toujours soutenue aucune dédicace ne saurais exprimer mon respect et mon amour éternel pour les sacrifices qu'elle a consentit à faire et qu'y on fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A mon cher Père qui est pour moi un model d'amour, de tendresse et de générosité, qui m'a toujours soutenue sans relâche et qui ma poussé a donné le meilleur de moi même.

A mes sœurs, mon frère et mes beaux frère qui ont toujours étaient a mes coté.

A mes neveux et nièces source d'affection et de tendresse.

A mes chères copine Dalila et Yasmîna ainsi que leurs familles, qui ont toujours étaient la pour m'épauler.

A mes amis Hakim et Walid pour leur présence et leur soutient.

A mes collègues de promotion Rania , Radhia et Ramî .

A mes collègues durant mon stage à LNCPP Hanna, Laeticia, Oussama et Abdou dont l'aide fut inestimable.

A mon Binôme avec la quelle j'ai passé une merveilleuse année je lui souhaite un parcours plein de bonheur et de réussite.

Chaïmaa



Dédicaces

A ma douce et tendre mère qui est mon exemple dans la vie je ne saurais jamais te rendre tout le mérite et la reconnaissance qui te sont due.

A mon père sans qui je ne serais jamais arrivé là où je suis aujourd'hui, sont amour et ses encouragements m'ont toujours poussé à me surpassé.

A ma sœur la seule unique Zozo et a mon frère, qui ont toujours étaient la pour moi et qui m'ont soutenue dans mon travail.

A ma tante Fatima ainsi qu'à ses petits anges pour leur gentillesse et leur amour.

A mes collègues de promotion Rania et Radhia.

A tout les membres de ma famille petits et grands.

A mon binôme pour sa patience et pour l'amitié qu'elle me porte, j'ai partagé avec elle des moments précieux et inoubliables.

Saliha



SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : APERÇU SUR QUELQUES GROUPES DE MICROORGANISMES ETUDIÉS.....	2
I -1 BACILLES À GRAM NEGATIF.....	2
I-1-1 Famille des <i>Enterobacteriaceae</i>	2
I-2 BACILLES À GRAM NEGATIFS NON FERMENTAIRES.....	3
I -2-1 Familles des <i>Pseudomonadaceae</i>	3
I.2.1.1- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
I.2.2- Famille des <i>Moraxellaceae</i>	4
I.2.2.1- <i>Acinetobacter baumannii</i>	4
I.3- COCCI À GRAM NEGATIF.....	4
I.3.1- Famille <i>Neisseriaceae</i>	4
I.4- COCCI A GRAM POSITIF	5
I.4.1- Famille des <i>Staphylococcaceae</i>	5
I.4.1.1- Le Genre <i>Staphylococcus</i>	5
I.4.1.2- Famille des <i>Streptococcaceae</i>	6
I.5- BACILLE A GRAM POSITIF.....	7
I.5.1- Famille de <i>Listeriaceae</i>	7
CHAPITRE II : ANTIBIOTIQUES ET ANTIBIORESISTANCE.....	8
II.1-Définition.....	8
II.2- Critères de classification des antibiotiques.....	8
II.3- Antibioresistance.....	10
II.3.1- Définition de la résistance.....	10
II.3.2- Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	11
II.3.2.1- Résistance naturelle et acquise.....	11
II.3.2.2- Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques.....	11
CHAPITRE III : PRESENTATION DE LA PLANTE <i>INULA VISCOSA</i>.....	13
III.1. Etymologie.....	13
III.2. Systématique.....	13
III.3. Description botanique et habitat.....	13
III.4. Usage traditionnelle d' <i>Inula viscosa</i>	15
III.5. Activités biologiques de la plante.....	16

III.6. Description des substances à activité antimicrobienne d' <i>Inula viscosa</i>	16
III.7. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	18
III.7.1- Méthode de diffusion.....	18
III.7.2- Méthode de dilution sur milieu liquide.....	18

PARTIE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODE	19
I.1- Matériel.....	19
I.1.1- Matériel végétal.....	19
I.1.2- Autres matériels.....	19
I.2- Méthodes	19
I.2.1- Isolement et identification des germes pathogènes.....	19
I.2.1.1- Techniques de Prélèvement.....	20
I.2.1.2- Méthodologie de diagnostic.....	21
I.2.1.3-Identification.....	23
I.2.1.3.1- Identification des entérobactéries.....	24
I.2.1.3.2- Identifications des bacilles à Gram négatif non fermentaires ...	25
I.2.1.3.2.1- Identification des souches d' <i>Acinetobacter spp</i>	25
I.2.1.3.2.2- Identification des souches de <i>Pseudomonas spp</i>	25
I.2.1.3.3- Identification des souches de <i>Staphylococcus spp</i>	25
I.2.1.3.4- Identification des souches de <i>Streptococcus spp</i>	26
I.2.2- Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	29
I.2.2.1- Test de Hodge modifié ou test du double disque (TDD)	33
I.2.2.2- Détection de la résistance inductible à la clindamycine	34
I.2.2.3- Screening test pour la détection de la résistance à la méticilline (résistance à l'oxacilline) chez <i>Staphylococcus spp</i>	34
I.2.2.4- CMI par bandelettes E-test.....	35
I.2.3- Etude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux <i>in vitro</i>	35
I.2.3.1- Préparation des extraits bruts.....	35
I.2.3.1.1- Calcul du rendement.....	37
I.2.3.2- Dosage des composés phénoliques totaux.....	37
I.2.3.3- Dosage des flavonoïdes.....	38
I.2.3.4- Sensibilité des souches vis-à-vis les différents extraits d' <i>I. viscosa</i> par méthode de diffusion sur milieu solide.....	39
I.2.3.5- Détermination des paramètres antibactériens (CMI, CMB).....	40
I.2.3.5.1- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	41
I.2.3.5.2- Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).....	41
I.2.3.5.3- Calcul de rapport CMB/CMI.....	41
I.2.4- Analyse statistique	42

II. RESULTATS ET INTERPRETATION.....	43
II.1- Isolement et identification des souches.....	43
II.1.1- Répartition des prélèvements selon leur provenance.....	43
II.1.2- Isolement.....	43
II.1.3- Identification.....	45
II.1.3.1- Répartition des espèces selon la nature de prélèvement.....	47
II.2- Etude de la résistance des souches aux antibiotiques.....	47
II.2.1. Etude de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques.....	47
II.2.2- Etude de la résistance des BGN non fermentaires aux antibiotiques.....	48
II.2.3- Etude de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques.....	51
II.2.4. Etude de la résistance des streptocoques aux antibiotiques.....	52
II.2.5. Etude de la résistance des entérocoques aux antibiotiques.....	53
II.3- Etude de l'activité antibactérienne des extraits végétaux <i>in vitro</i>	54
II.3.1- Extraction, rendement et qualité organoleptique.....	54
II.3.2- Dosage des composés phénoliques totaux.....	54
II.3.3- Dosage des flavonoïdes.....	55
II.3.4- Etude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux <i>in vitro</i>	55
II.3.4.1- Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis les différents extraits.....	55
II.3.2.2- Détermination des paramètres antibactériens (CMI, CMB).....	62
 DISCUSSION GENERALE.....	 65
 CONCLUSION & PERSPECTIVES.....	 72

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
I	Les caractères d'identification des genres les plus fréquemment rencontrés.....	3
II	les principales caractéristiques physiopathologiques de certaines espèces étudiées.....	7
III	Propriétés de quelques antibiotiques.....	9
IV	Usages traditionnels d' <i>Inula viscosa</i>	15
V	Principaux types de composés phénoliques et terpéniques présents chez <i>I. viscosa</i>	17
VI	Antibiotiques testés pour les entérobactéries.....	29
VII	Antibiotiques testés pour les souches de <i>Pseudomonas spp</i>	30
VIII	Antibiotiques testés pour les souches d' <i>Acinetobacter spp</i>	30
IX	Antibiotiques testés pour les streptocoques β hémolytiques.....	31
X	: Antibiotiques testés pour les souches de <i>Staphylococcus spp</i>	31
XI	: Antibiotiques testés pour les souches de <i>Neisseria meningitidis</i>	32
XII	: Tableau récapitulatif des différents tests complémentaires.....	33
XIII	: Technique de la détection de la résistance inductible à Clindamycine..	34
XIV	: Screening test OXA.....	34
XV	: Répartition des prélèvements selon leur provenance.....	43
XVI	: Nombre des espèces identifiées.....	45
XVII	: les CMI pour la VA et la TP pour les souches de <i>S.aureus</i> étudiées...	54
XVIII	: Les principales caractéristiques des extraits issus d' <i>Inula viscosa</i>	54
XIX	: Taux de polyphénols totaux des différents extraits méthanolique et chloroformique feuilles/fleurs d' <i>Inula viscosa</i>	54
XX	: Teneur de l'extrait méthanolique et chloroformique des feuilles et des fleurs d' <i>Inula viscosa</i>	55
XXI	: Concentrations minimales inhibitrices CMI, Concentrations bactéricides CMB, et le rapport CMB/CMI des extraits d' <i>Inula viscosa</i> .	63
XXII	: Tableau de lecture des résultats de la galerie API 20 ^E	Annexe I
XXIII	: Tableau de lecture de la galerie API Staph.....	Annexe I
XXIV	: Tableau de lecture de la galerie API 20 NE.....	Annexe I
XXV	: Profil de résistance des entérobactéries	Annexe II
XXVI	: Profil de résistance des staphylocoques.....	Annexe II
XXVII	: Profil de résistance de <i>N. meningitidis</i>	Annexe II
XXVIII	: Profil de résistance d' <i>A. baumannii</i>	Annexe II
XXIX	: Profil de résistance <i>P. aeruginosa</i>	Annexe II

XXX	: Profil de résistance des streptocoques.....	Annexe II
XXXI	: Les densités optique du dosage des flavonoides des extraits chloroformique et methanolique des feuilles et fleurs d' <i>Inula viscosa</i>	Annexe II
XXXII	: Les densités optique du dosage des polyphénols des extraits chloroformique et methanolique des feuilles et fleurs d' <i>Inula viscosa</i>	Annexe II
XXXIII	: La gamme d'étalonnage de l'acide gallique.....	Annexe II
XXXIV	: Valeurs moyennes des diamètres des zones d'inhibition des différents extraits des feuilles et fleurs d' <i>Inula viscosa</i>	Annexe II
XXXV	: Valeurs moyennes des diamètres des zones d'inhibition des différents extraits des feuilles et fleurs d' <i>Inula viscosa</i>	Annexe II

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
1	Les différentes parties aériennes d' <i>Inula viscosa</i>	14
2	Schémas d'isolement à partir des selles.....	22
3	Le résultat positif et négatif de la catalase.....	24
4	Test d'agglutination PASTOREX positif.....	26
5	Test d'optochine positif.....	27
6	Test de bacitracine négatif.....	28
7	CMI des antibiotiques de la souche <i>Enterobacter cloacae</i> par E-test (à droite CMI Imipenème, à gauche CMI Colistine).....	35
8	Différents étapes d'extraction des polyphénols par les solvants organiques.....	36
9	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	38
10	Méthode de diffusion sur milieu gélosé.....	40
11	Préparation de la gamme de concentration.....	41
12	Taux de prélèvements positifs.....	43
13	Répartition des patients à prélèvements positifs selon le sexe.....	44
14	Répartition des patients à prélèvements positifs selon les tranches d'âges.....	44
15	Répartition des prélèvements selon leur nature	45
16	Répartition des souches par groupe bactérien.....	46
17	Répartition des espèces selon la nature de prélèvement.....	47
18	Résistance des entérobactéries aux antibiotiques.....	48
19	Résistance des <i>A.baumannii</i> aux antibiotiques.....	49
20	Résistance des <i>P.aeruginosa</i> aux antibiotiques.....	49
21	Synergie caractéristique sous forme d'un bouchon de champagne.....	50
22	Test de confirmation double disque sur la souche <i>K .pneumoniae</i>	50
23	Résistance des staphylocoques aux antibiotiques.....	51
24	La méthode CMI par E-test de la souche <i>S.aureus</i>	52
25	Résistance des streptocoques aux antibiotiques.....	53
26	Résistance des entérocoques aux antibiotiques.....	53

27	L'activité antibactérienne des différents extraits feuilles d' <i>I.viscosa</i> à leurs différentes doses sur l'ensemble des bactéries à Gram négatif étudiées.....	57
28	L'activité antibactérienne des différents extraits feuilles d' <i>I.viscosa</i> à leurs différentes doses sur l'ensemble des bactéries à Gram positif étudiées.....	58
29	L'activité antibactérienne des différents extraits fleurs d' <i>I.viscosa</i> à leurs différentes doses sur l'ensemble des bactéries à Gram positif étudiées.....	59
30	L'activité antibactérienne des différents extraits fleurs d' <i>I.viscosa</i> à leurs différentes doses sur l'ensemble des bactéries à Gram négatif étudiées.....	60
31	Effet des extraits d' <i>Inula viscosa</i> feuilles/fleurs sur <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633.....	52
32	Concentration minimale inhibitrice de l'extrait méthanolique de SARM	64
33	CMB de l'extrait méthanolique de SARM.....	64
34	Différents types de matériel biologiques (prélèvements).....	Annexe I
35	Les matériaux non biologiques (appareillages).....	Annexe I
36	Fiche de renseignements clinique.....	Annexe I
37	Identification de <i>K. pneumoniae</i> par la galerie API 20 ^E	Annexe I
38	Identification d' <i>A. baumannii</i> par la galerie API NE.....	Annexe I
39	Démarche diagnostique d'une infection à streptocoque.....	Annexe I
40	Etape d'identification des streptocoques beta hémolytique par STREPTEX.....	Annexe I
41	Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI des Entérobactéries.....	Annexe I
42	Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI de <i>P. aeruginosa</i>	Annexe I
43	Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI de <i>Acinetobacter spp</i>	Annexe I
44	Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI de <i>Staphylococcus spp</i>	Annexe I
45	Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI d' <i>Enterococcus spp</i>	Annexe I
46	Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI de <i>Streptococcus spp.</i> groupe <i>Viridans</i>	Annexe I
47	Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI d' <i>Streptococcus spp.</i> groupe beta hémolytique.....	Annexe I
48	Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Annexe I
49	Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI d' <i>N. meningitidis</i>	Annexe I

LISTE DES ABREVIATIONS

- ❖ **API** : Application programming interface
- ❖ **BGN** : Bacille à Gram négatif
- ❖ **CLSI** : Clinical laboratory standards institute
- ❖ **CMB** : concentration minimale bactéricide
- ❖ **CMI** : concentration minimale inhibitrice
- ❖ **DMSO** : Diméthyl sulfoxyde
- ❖ **DO** : Densité optique
- ❖ **DZI** : Diamètre de zone d'inhibition
- ❖ **EAG** : Equivalent d'acide gallique
- ❖ **ECF** : Extrait chloroformique feuille
- ❖ **ECf** : Extrait chloroformique fleur
- ❖ **EHF** : Extrait hexanique feuille
- ❖ **EHf** : Extrait hexanique fleur
- ❖ **EMF** : Extrait méthanolique feuille
- ❖ **EMf** : Extrait méthanolique fleur
- ❖ **GH**: Gélose Hektoen
- ❖ **GMH**: Gélose Muller Hinton
- ❖ **GN** : Gélose nutritive
- ❖ **GSC** : Gélose au sang cuit
- ❖ **GSF** : Gélose au sang frais
- ❖ **NE** : non entérobactérie
- ❖ **OMS** : Organisation mondial de la santé
- ❖ **SARM** : staphylococcus aureus résistant à la méticilline.
- ❖ **SBH** : Streptocoque β hémolytique
- ❖ **SFM** : Sérum free medium
- ❖ **TDA** : Tryptophane désaminase
- ❖ **TSI** : Triple sugar Iron

Résumé

Les bactéries sont à l'origine de réel problème de santé publique à cause de leur implication dans de nombreuses maladies. Leur résistance aux antibiotiques est devenue l'un des problèmes les plus importants dans la lutte contre les maladies infectieuses dans le monde.

Cette étude consiste d'une part, d'isoler, identifier les germes issus de différents sites de prélèvements, au niveau de l'EHS El Kettar, et l'évaluation de leur profil de résistance vis-à-vis des antibiotiques et d'autre part, évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne des extraits hexaniques, méthanoliques, aqueux et chloroformiques des deux organes feuilles et fleurs, d'une plante médicinale largement ré pondue dans le bassin méditerranéen , *Inula viscosa*, contre les bactéries les plus résistantes isolées. Et cela par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Un total, de 1283 prélèvements a été recueillis provenant de divers sites d'infection, dont 206 seulement ont été positifs. Le site le plus infecté est le tractus urinaire présentant le taux le plus élevé de 42.42%, suivi par les prélèvements de pus avec 9.95%. Le sexe féminin était le plus touché avec un sex-ratio de 1.26.

L'identification a permis de caractériser une prédominance des BGN avec une fréquence de 79.66%, parmi eux, les entérobactéries occupent la première place avec un taux de 60.17%.

L'étude de profil de résistance de l'ensemble des bactéries à Gram positif et négatif a montré des taux de résistances élevées et alarmants vis-à-vis des différentes familles d'antibiotiques. 14.38% des BLSE parmi les entérobactéries et 6.89% de SARM parmi la totalité des *S. aureus* isolés ont été identifiés.

L'extrait méthanolique des feuilles d'*Inula viscosa* a montré l'activité la plus importante, par rapport aux autres extraits contre les souches testées, beaucoup plus contre les Gram positifs où le diamètre de zones d'inhibition le plus important a été observé pour les SARM ($15.33 \pm 0.5\text{mm}$).

Seuls les extraits méthanoliques, chloroformiques, hexaniques ont été retenus pour la détermination de paramètres antibactériens (CMI et CMB). Les CMI obtenues sont comprises entre 25 mg/ml et 6.25 mg/ml. Quant aux CMB varie entre 50 mg/ml et 12.5 mg/ml.

Cette étude nous a permis d'estimer l'activité antibactérienne, d'*Inula viscosa*, plante médicinale traditionnelle, impliquée dans le traitement de diverses pathologies et plus particulièrement celles d'origine bactérienne.

Mots clés :

Bactéries, antibiorésistance , *Inula viscosa*, extraits , diamètre de zone d'inhibition.

Abstract

Bacteria cause a real public health problem because of their involvement in many diseases. Their resistance to antibiotics has become one of the most important problems in the fight against infectious diseases in the world.

This study consists of isolating, identifying the germs from different sampling sites, at the EHS El Kettar. and evaluating their resistance profile to antibiotics, on the other hand, to evaluate *in vitro* the antibacterial activity of the hexanic, methanolic, aqueous and chloroform extracts of the two leaf or flower organs, of a medicinal plant largely replicated in the Mediterranean basin, *Inula viscosa*, against the most resistant bacteria isolated. And this by the method of diffusion in agar medium (aromatogram).

A total of 1283 specimens were collected from various sites of infection, only 206 of which were positive. The most infected site is the urinary tract with the highest rate of 42.42%, followed by pus removal with 9.95%. The female sex was the most affected with a sex ratio of 1.26.

The identification allowed to characterize a predominance of the BGN with a frequency of 79.66%, among them, enterobacteria occupy the first place with a rate of 60.17%.

Study of the resistance profile of all Gram-positive and negative bacteria showed high and alarming levels of resistance to different families of antibiotics. 14.38% of ESBLs among enterobacteriaceae and 6.89% of MRSA among all isolated *S. aureus* were identified.

The methanolic extract of the *Inula viscosa* leaves showed the greatest activity compared to the other extracts against the tested strains, much more against the Gram-positive ones where the diameter of the zones of greatest inhibition was observed for MRSA ($15.33 \pm 0.5\text{mm}$).

Only the methanolic, chloroformic and hexanic extracts were retained for the determination of antibacterial parameters (MIC and MBC). The MICs obtained are between 25 mg / ml and 6.25 mg / ml. The CMB varies between 50 mg / ml and 12.5 mg / ml.

This study justifies the traditional use of *Inula viscosa* in the treatment of various pathologies and more particularly those of bacterial origin.

Keywords:

Bacteria, antibiotic resistance, *Inula viscosa*, extracts, diameter of inhibition zone.

ملخص

تسبب البكتيريات مشكلة صحية عامة بسبب مشاركتهم في العديد من الأمراض. أصبحت مقاومتها للمضادات البكتيرية واحد من أهم القضايا في مجال مكافحة الأمراض المعدية في العالم.

تهدف هذه الدراسة من جهة عزل مكروبات من مواقع مختلفة على مستوى مستشفى القطار وتقييم نسبة مقاومتها للمضادات البكتيرية، وتهدف هذه الدراسة من جهة أخرى الى تقييم نشاط مضادات البكتيريا لمستخلصات الميثانول والكلوروفورم والهيكزان من زهور وأوراق نبتة المقرمان التي توجد بكثرة في حوض البحر الأبيض المتوسط ضد البكتيريا الأكثر مقاومة وهذا بطريقة الانتشار على وسط جيلوزي.

لقد تم عزل 1283 عينة من مواقع مختلفة العدوى منها 206 كانت إيجابية. الموقع الأكثر إصابة هي المسالك البولية بأعلى نسبة 42.42% تليها عينات القيح مع 9.95% الجنس الأنثوي كان الأكثر تضررا مع نسبة الجنس 1.26

بين العزل وتحديد البكتيريا ان البكتيريا السالبة احتلت المركز الأول بمعدل 79.66%. من بينها *entérobactéries* بنسبة 60.17%.

ان دراسة نسبة المقاومة لجميع البكتيريا الموجبة والسالبة بينت ترددات مقاومة عالية ضد مختلف عائلات مضادات البكتيريا 14.38% من BLSE من بين *Entérobactéries* و6.89% من SARM من مجموع *Staphylococcus aureus* المعزولة.

مستخلص الميثانول لورق *Inula viscosa* أظهر نشاط الأكثر أهمية بالنسبة لمستخلصات الأخرى وذلك مع البكتيريا الموجبة بمناطق تثبيط ذات القطر (0.5±15.33). فقط المستخلصات ميثانولية والكلوروفورم والهيكزان قد تم اختيارها لتحديد وCMI CMB، CMI المتحصل عليها بين 50ملغ/مل و 12.5ملغ/مل، أما بالنسبة ل CMI فالنسبة تتراوح ما بين 50ملغ/مل و 12.5ملغ/مل.

مدة الدراسة بينت الاستخدام التقليدي لنبتة المقرمان في علاج العديد من الأمراض وخاصة تلك ذات المنشأ البكتيري.

الكلمات المفتاحية قطر منطقة التثبيط. مستخلص. مقرمان المقاومة ضد المضادات الحيوية. البكتيريا.

Introduction

INTRODUCTION

La découverte des antibiotiques a longtemps permis de les considérer comme étant les armes puissantes qui sauraient éradiquer toute maladie infectieuse d'origine bactérienne. Toutefois, la résistance aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses, les rendant ainsi difficile et parfois impossible. Ainsi, des échecs thérapeutiques surviennent déjà pour des infections pourtant banales, mais causées par des bactéries multirésistantes aux antibiotiques qui vont se multiplier, avec un risque de décès. Cette résistance pourrait être due à l'utilisation massive et systématique des antibiotiques dans le domaine médical. Elle est devenue une menace à l'échelle planétaire. Prise très au sérieux par les autorités sanitaires qui, comme l'OMS commencent à multiplier les mises en garde et les plans d'action (OMS, 2002).

En Algérie comme dans les autres pays en voie de développement, les maladies infectieuses constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité (Bendahou *et al.*, 2007). La situation est plus préoccupante à cause de l'apparition des souches de micro-organismes antibiorésistants et l'émergence des infections non communes (OMS, 2002) qui compromettent les traitements à l'aide des médicaments existants. Face à ces nombreux obstacles que présente l'utilisation des antibactériens disponibles, il est indispensable de rechercher de nouvelles substances antibactériennes efficaces et à large spectre d'action. Une des stratégies pour cette recherche consiste à explorer Des plantes utilisées en médecine traditionnelle (Omolo *et al.*, 2004).

En effet, en 2002, l'OMS estime que, pour se soigner, 80% de la population africaine recourt toujours à la médecine traditionnelle pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales. Ces espèces végétales d'aussi grande importance pour la santé des populations méritent d'être étudiées scientifiquement pour leur meilleure utilisation.

Dans cette optique, cette étude vise deux objectifs principaux :

- D'une part, d'isoler, identifier une collection de bactéries multiples impliquées dans des pathologies diverses, issues de différents sites de prélèvements, et d'évaluer leur profil de résistance vis-à-vis des antibiotiques.
- D'autre part, d'étudier les effets des extraits aqueux, méthanoliques, chloroformiques, hexaniques des feuilles et fleurs d'*Inula viscosa* (une plante très connue pour ces vertus thérapeutiques, souvent utilisée efficacement dans le traitement traditionnel de diverses maladies infectieuses, notamment d'origine bactérienne) sur la croissance *in vitro* de certaines des bactéries isolées, les plus résistantes aux antibiotiques.

Revue

Bibliographique



**Aperçu sur
quelques groupes
de
microorganismes
étudiés**



I-APERÇU SUR QUELQUES GROUPES DE MICROORGANISMES ETUDIÉS

I-1 BACILLES À GRAM NEGATIF

I-1-1 Famille des *Enterobacteriaceae*

Les entérobactéries constituent une famille bactérienne hétérogène qui représente près des trois quarts des isollements d'un laboratoire de bactériologie médicale (**Prescott et al., 2013**).

✚ Taxinomie

Domaine : Bactéria

Phylum : Protéobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : *Enterobacteriaceae* (**Madigan et Martinko, 2007**).

Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres *Escherichia*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Citrobacter*.

✚ Description général de la famille

Ce sont des bacilles à Gram négatif, le plus souvent court (1 à 6µm), droits, immobiles ou mobiles par une ciliature péritriches. L'ensemble de ces bactéries pousse habituellement très aisément sur milieux ordinaires. La température optimale de la croissance est généralement de 35 à 37°C, à l'exception de *Yersinia*. Elles sont toutes aéro-anaérobies facultatives, l'aspect général des colonies de ces bactéries sur gélose nutritive est florissant : colonies de 1 à 3 mm de diamètre bombées, lisse, brillantes. (**Denis et al., 2007**).

La principale particularité commune des entérobactéries est d'être présente dans la flore digestive de l'homme et des animaux à sang chaud. Leur distribution dans la nature est néanmoins plus large, puisqu'on les retrouve notamment chez les végétaux et dans l'environnement (sol et eau). Les entérobactéries sont responsables de deux grandes pathologies spécifiques telles la typhoïde avec *Salmonella typhi* ou d'une pathologie opportuniste notamment dans le cadre d'infection nosocomiale (**Denis et al., 2007**).

La recherche des caractères généraux de la famille et des caractères biochimiques (**Tableau I**) demeurent les moyens d'identification couramment mise en œuvre. Elles permettent de différencier entre les nombreux genres et espèces.

Tableau I: Les caractères d'identification des genres les plus fréquemment rencontrés

	<i>Escherichia</i>	<i>Shigella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Proteus</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Yersinia</i>
Lactose	+	-	-	+	-	+	+	-	-
ONPG	+	-	+/-	+	-	+	+	+	+
Indole	+	+/-	+/-	-	+/-	+/-	-	-	+/-
VP	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Citrate	-	+/-	-	+	+/-	+	+	+	-
Mobilité	+*	+	-	+	+	-	+	+	+
Urée	-	+	-	-	+	+	-	-	+
TDA	-	+	-	-	+	-	-	-	-
LDC	+	-	+	-	-	+	*	*	-
ODC	+	*	+	+	*	-	+	*	*
H ₂ S	-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-

*variation entre souches ou espèces dans la possession de ce caractère (**Prescott et al., 2013**)

I-2 BACILLES À GRAM NÉGATIFS NON FERMENTAIRES

Sous le vocable de « bacilles à Gram négatif non fermentaires » sont regroupées plusieurs familles et genres de bactéries. Dans un laboratoire de bactériologie médicale 10 à 15% des bacilles à Gram négatif (BGN) sont des BGN non fermentaires et les trois quarts appartiennent à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*. (**Denis et al., 2007**).

I 2-1 Familles des *Pseudomonadaceae*

I.2.1.1- *Pseudomonas aeruginosa*

Taxinomie

Domaine : Bacteria

Phylum : Protéobactéria

Classe : γ Proteobactérie

Ordre : Pseudomonadales

Famille : *Pseudomonadaceae*

Genre : *Pseudomonas* (**Madigan et Martinko, 2007**).

✚ Description général du genre

Bâtonnet aérobie, droit ou légèrement incurvé de 0.5 à 1,0 µm sur 1,5 à 5,0 µm de long. Il est mobile grâce à un ou plusieurs flagelles polaires L'espèce *Pseudomonas aeruginosa* produit des pigments jaunes verdâtres solubles (**Prescott et al., 2013**).

P. aeruginosa est la bactérie pathogène opportuniste par excellence. Les infections à *P.aeruginosa* surviennent chez des sujets âgés, immunodéprimés présentant des affections intercurrentes (insuffisance respiratoire, brûlures). On isole cette espèce de suppurations profondes ou superficielles, d'urine et plus rarement d'hémoculture (**Tortora et al., 2012**).

I.2.2- Famille des *Moraxellaceae*

I.2.2.1- *Acinetobacter baumannii*

C'est un coccobacille à Gram négatif, non fermentaire, aérobie stricte, non sporulé, parfois capsulé, immobile, possède une catalase positif et dépourvu d'oxydase. C'est une bactérie ubiquitaire, pouvant être isolée à partir du sol, de l'eau, des animaux et de l'homme et capable d'utiliser une grande variété de substrats comme source d'énergie (**Zahoun et al.,2010**).

Acinetobacter baumannii constitue de loin la principale espèce du genre *Acinetobacter* impliquée en clinique et est responsable de près de 10% des infections nosocomiales qui concernent essentiellement l'arbre respiratoire, l'appareil urinaire, les plaies, notamment sur cathéter. (**Denis et al., 2007**)

✚ Taxinomie

Domaine : Bacteria

Phylum : Protéobactéria

Classe : γ Proteobacterie

Ordre : Pseudomonadales

Famille :*Moraxellaceae*

Genre :*Acinetobacter* (**Madigan et Martinko, 2007**)

I.3- COCCI À GRAM NEGATIF

I.3.1- Famille *Neisseriaceae*

La taxonomie de la famille des *Neisseriaceae* a beaucoup évolué au cours du temps et comprend de nombreux genres dont le genre *Neisseria*. Les bactéries appartenant à ce genre, peuvent être cocci, en diplocoque caractéristique en « grains de café » ou en tétrade, aérobie strict, oxydase positif, catalase positif. Les deux principales espèces de *Neisseria* pathogènes sont *N. meningitidis* et *N. gonorrhoeae*. Il existe cependant des porteurs sains de *N. meningitidis* (**Denis et al., 2007**).

✚ Taxinomie

Domaine : Bacteria

Phylum : Protéobactéria

Classe : γ Proteobacterie

Ordre : Pseudomonadales

Famille : *Neisseriaceae*

Genre : *Neisseria* (**Madigan et Martinko, 2007**).

✚ *Nisseria meningitidis*

Bactérie non exigeante et peut être cultivé à 37°C sans CO₂ sur gélose au sang ou Mueller-Hinton. Leur identification doit être poursuivie par la détermination du sérotype. En effet le méningocoque a la particularité de posséder une capsule polysaccharidique qui a des propriétés antigéniques permettant de classer les souches de méningocoque en 12 sérotypes (**Denis et al., 2007**).

Le réservoir du méningocoque est spécifiquement humain, et la transmission interhumaine se fait par voies aérienne. Il peut être à l'origine de différentes manifestations cliniques citons : méningite cérébro-spinale, infections pulmonaires, cellulites, méningococcémies (**Denis et al., 2007**).

I.4- COCCI A GRAM POSITIF

I.4.1- Famille des *Staphylococcaceae*

I.4.1.1- Le Genre *Staphylococcus*

✚ Taxinomie

Domaine : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus* (**Madigan et Martinko, 2007**).

✚ Description général du genre

Ce sont des cocci à Gram positif, anaérobies facultatifs, non mobiles, de 0.5 à 1.5µm de diamètre, observables seuls, en paires et en tétrades. Catalase positif et oxydase négatif. Les staphylocoques sont normalement associés à la peau, aux glandes cutanées et aux muqueuses des animaux à sang chaud (**Prescott et al., 2013**).

L'espèce *Staphylococcus aureus* est le staphylocoque pathogène le plus important chez l'homme, est ainsi nommée à cause de la pigmentation jaune des colonies (aureus = doré). *S.aureus* produit de nombreuses toxines qui contribuent à sa pathogénicité en accroissant sa capacité à pénétrer dans l'organisme et les tissus (**Tоторa et al., 2012**).

Il est la cause de furoncles, d'abcès, d'infections de blessures, de pneumonies, du syndrome de choc toxique et d'autres maladies. La souche de *S. aureus* résistante à la méthicilline (SARM) fait partie des pathogènes résistants aux antibiotiques les plus inquiétants que l'on connaisse (**Prescott et al., 2013**).

I.4.1.2- Famille des *Streptococcaceae*

✚ Taxinomie

Domaine : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : *Streptococcaceae* (**Madigan et Martinko, 2007**).

✚ Description général de la famille

Famille des *Streptococcaceae* regroupe un ensemble de cocci à Gram positif, se présentant sous forme de cellules ovoïdes ou sphériques de moins de 2µm de diamètre. Ils sont dépourvus de catalase et de cytochrome oxydase. Ils produisent de l'acide lactique par fermentation du glucose et sont anaérobies-aérotolérants (**Denis et al., 2007**).

L'absence de catalase et l'aspect caractéristique en diplocoque ou en chaînettes lié aux divisions successives des cellules selon un même plan, permettent de les distinguer des *Micrococcaceae* (**Denis et al., 2007**).

Selon la classification des bactéries basées sur le séquençage des ARN 5S et 16s, 15 genres différents appartiennent à la famille des *Streptococcaceae*, dont les deux genres *Streptococcus* et *Enterococcus* sont les plus impliqués en pathologie humaine. Certains streptocoques et entérocoques sont présents au niveau des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux où ils vivent à l'état commensal. Ils sont responsables de nombreuses infections, dont la nature et la gravité sont variable selon les espèces et les groupes antigéniques (**Denis et al., 2007**) (Tableau II).

Tableau II: les principales caractéristiques physiopathologiques de certaines espèces étudiées

Espèce	Groupe	Hémolyse	Hôte	Habitat	Exemple de Maladies
<i>Streptococcus pyogènes</i>	A	β	Homme	Rhinopharynx, peau et intestin	Infections invasives et non invasives cutanées
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	β	Bétail, Homme	Tractus gastro-intestinal et génital, rhinopharynx	Infections néonatales urogénitale
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Non groupable	α	Homme animal	Oro-pharynx	Méningites, otite, sinusite
<i>Enterococcus spp.</i>	D	Non-hémolytique	Homme Animal	Intestin, bouche vagin	Bactériémies, endocardite

(Prescott et al., 2013)

I.5- BACILLE A GRAM POSITIF

I.5.1- Famille de *Listeriaceae*

✚ Taxinomie

Domaine : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : *Listeriaceae* (Madigan et Martinko, 2007).

✚ Description général du genre

Les *Listeria* sont des petits bacilles à Gram positif non sporulés, mobiles. Actuellement, il comprend six espèces dont *Listeria monocytogenes* est la seule pathogène à la fois pour l'homme et l'animal.

L. monocytogenes est une bactérie saprophyte et ubiquitaire. Elle est très répandue au niveau du sol, des eaux, des végétaux et se retrouve dans les matières fécales de mammifères sains. C'est une bactérie responsable de la listériose humaine, qui survient soit de façon sporadique soit sous forme d'épidémie, parfois à grande échelle (Denis et al., 2007).



Antibiotiques

Et

Antibiorésistance



II. ANTIBIOTIQUES ET ANTIBIORESISTANCE

II.1-Définition

Un antibiotique (du grec *anti*, contre et *bios*, la vie) est une substance chimique naturelle, synthétique, ou semi synthétique ayant un mode d'action spécifique contre les bactéries. La majorité des antibiotiques sont des molécules naturelles, produites essentiellement par des bactéries ou certains champignons afin d'éliminer les micro-organismes sensibles (effet bactéricide) ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (**Kohanski et al, 2010**).

II.2- Critère de classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés en se basant sur différents critères tels que :

- ✚ **Origine** : lorsque l'antibiotique est élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- ✚ **Mécanisme d'action** : Les mécanismes d'action des agents antimicrobiens se divisent en fonction de la cible de l'antibiotique :
 - ✓ une inhibition de la synthèse des constituants de la paroi (peptidoglycane ou membrane externe).
 - ✓ un blocage de la synthèse des protéines.
 - ✓ un blocage de la synthèse des acides nucléiques.
 - ✓ une altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique.
- ✚ **Spectre d'activité** : on retrouve ceux ayant :
 - ✓ un spectre d'action étroit, c'est-à-dire possédant une efficacité restreinte à une variété de micro-organismes.
 - ✓ un large spectre d'action : capable de détruire différents types de microorganismes.
- ✚ **Type d'action** : il existe deux catégories d'antibiotiques (**Sabine, 1995 ; Boulahbal, 2006**)
 - ✓ bactéricide : l'antibiotique lyse la cellule bactérienne (**Prescott et al., 2013**).
 - ✓ bactériostatique : inhibe la croissance bactérienne de façon réversible (**Prescott et al., 2013**).
- ✚ **Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles, le tableau ci-dessus présente les principaux groupes d'antibiotiques et leur mode d'action.

Le Tableau III rapporte quelques propriétés des ATB.

Tableau III: Propriétés de quelques antibiotiques

Groupe d'antibiotiques	Mode d'action	Membres	Spectre	Effet primaire
Inhibition de la synthèse de la paroi				
Pénicillines	Inhibent les enzymes de transpeptidation impliquées dans le pontage des chaînes polysaccharidiques du peptidoglycane de la paroi bactérienne. Activent les enzymes lytiques de la paroi	Pénicilline G Méthicilline Ampicilline	Etroit (gram+) Large (Gram+, quelques Gram-)	Bactéricide
Céphalosporines	Comme ci-dessus	Céfoxitine Céftriaxone	Large (Gram+, quelques Gram-)	Bactéricide
Vancomycine	Se fixe directement à la terminaison D-Ala-D-Ala des précurseurs et inhibe la transpeptidation. Elle a donc un site de fixation différent des pénicillines	vancomycine	Etroit (gram+)	Bactéricide
Inhibition de la synthèse protéique				
Aminoglycosides	Se fixe à la sous unité 30S du ribosome et bloque la synthèse protéique et provoque des erreurs de la lecture de l'ARN	Kanamycine Gentamicine Streptomycine	Large (Gram+) Etroit (Gram-aérobie)	Bactéricide
Tétracyclines	Comme ci-dessus	Oxytétracycline Chlorotétracycline	Large (Gram+)	Bactériostatique
Macrolides	Se fixe sur l'ARN 23S de la sous unité 50S et inhibe l'élongation de la chaîne peptidique	Erythromycine Clindamycine	Large (Gram+ aérobies et anaérobie, quelques Gram-)	Bactériostatique
Chloramphénicol	Comme ci-dessus	Chloramphénicol	Large (Gram+)	Bactériostatique

Inhibition de la synthèse des acides nucléiques				
Quinolones et fluoroquinolones	Inhibent l'ADN gyrase et la topo-isomérase IV, de ce fait interfèrent avec la réplication de l'ADN et la transcription	Ciprofloxacine Acide nalidixique	Etroit (meilleur sur Gram- que sur Gram+)	Bactéricide
		Lévofloxacine	Large	
Rifampicine	Inhibe l'ARN polymérase ADN dépendante	Rifacilline Rifamycine	Infection due à mycobactérie et quelques Gram-telles que <i>Neisseria meningitidis</i>	Bactéricide
Perturbation de la membrane cellulaire				
Polymyxine B	Se fixe à la membrane cytoplasmique et perturbe sa structure et sa perméabilité	Polymyxine B	Etroit (Gram-) et les mycobactéries sont naturellement résistantes	Bactéricide

(Prescott *et al.*, 2013)

II.3- ANTIBIORESISTANCE

Depuis l'introduction des antibiotiques en thérapeutique, on assiste à l'émergence très rapide de nombreuses souches bactériennes devenues insensibles à un ou plusieurs antibiotiques. Cette résistance est l'un des problèmes rencontrés les plus aigus de la thérapeutique en ville et surtout à l'hôpital. Le nombre d'antibiotique efficaces se restreint : c'est un problème de santé publique.

II.3.1- Définition de la résistance

La résistance aux antibiotiques est un terme tout à fait relatif. En effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques », qui sont basées sur différents critères génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques. Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. (Guardabassi et Courvalin, 2006).

II.3.2- Mécanismes de résistance aux antibiotiques

II.3.2.1- Résistance naturelle et acquise

Il existe deux types de résistance aux antibiotiques :

- ✓ **Résistance naturelle (intrinsèque) :** On parle de résistance naturelle lorsque toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique. Elle est liée à leurs patrimoine génétique qui les rend insensibles à un certain nombre d'agents. (**Normak, 2002**).
- ✓ **Résistance acquise :** La résistance acquise à un antibiotique n'est présente que chez certaines souches d'une espèce donnée. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou de l'acquisition de matériel génétique étranger provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles. (**Guardabassi et Courvalin, 2006**).

II.3.2.2- Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance (**Bevilacqua, 2011**), les plus répandus étant :

- ✓ **Inactivation enzymatique de l'antibiotique**

Représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactamines, des aminoglycosides et des phénicoles le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, la fosfomycine. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. (**Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009**).

- ✓ **Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique**

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

Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les bêta-lactames dont les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) par la synthèse d'une nouvelle PBP (Penicillin Binding Protein) possédant une affinité moindre pour la méthicilline (**Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009**).

✓ Pompes à efflux

L'efflux actif, qui est médié par des protéines transmembranaires, est un mécanisme nécessitant de l'énergie pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que les antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (Li et Nikaido, 2004 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

✓ Diminution de la perméabilité

Pour agir, les antibiotiques doivent pénétrer dans la cellule bactérienne. Beaucoup d'antibiotiques utilisent les systèmes de transport propres à la bactérie pour ses échanges avec l'extérieur (Marchou *et al.*, 1987). Pour résister, la bactérie contrecarre cette entrée de toxiques en diminuant la perméabilité de sa membrane par une altération des porines, une inhibition du transport actif, une inhibition de la pénétration à travers les peptidoglycanes recouvrant la membrane plasmique chez les bactéries Gram positif.



Etude
ethnobotanique
de la plante
Inula viscosa L.



III- PRESENTATION DE LA PLANTE *Inula viscosa*

III.1- Etymologie

Inula trouve son origine du grec «*Ineo*» signifiant «je purge» et «*viscosa*» qui veut dire visqueuse (Fauron et Moati 1983), d'où l'appellation commune de la plante «inule visqueuse» (Fournier, 1947). En Algérie, la plante est connue sous le nom de «magramen» (Zeguerrouet al., 2013).

✚ Les dénominations communes dans différentes langues :

- **En Arabe** : tubbaq ; terhelan ; quiniza(Ibn al-baytar, 1448) مقرمان (Baba Aissa Farid, 1990) mersitt (Santa et Quezel, 1963).
- **En français** : inule ; inule visqueuse ; aunée visqueuse (Fournier 1947).
- **En anglais** : woodyfleabane, stickyfleabane ou yellowfleabane (Fresquetet al., 1993).
- Chez les Berbères, on la trouve sous le nom de Amagramène (Mohand Ait Youssef, 2006).

III.2. Systématique

Selon Quezel et Santa (1963), la systématique est comme suite :

Règne	Végétale
Sous règne	Tracheobionta ou plantes vasculaire.
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Magnoliopsida ou dicotylédones
Sous classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteracées(composées)
Genre	<i>Inula</i> L.
Espèce	<i>InulaViscosa</i> L. Ait
Synonymie	<i>Dittrichia viscosa</i> L. Greuter

III.3- Description botanique et habitat

- **Etude botanique**

C'est une plante vivace glanduleuse-visqueuse, à odeur forte (Mohand Ait Youssef, 2006). Elle pousse en buissons très dense de 0.5 à 1m de hauteur, à tiges dressées et très feuillées (Baba Aissa, 1990) (Figure 1).

La tige est frutescente au niveau de sa base et présente à sa sommité de nombreux capitules à fleurs jaunes. Ces dernières sont toutes fertiles (Zeguerrouet al., 2013).

Ses feuilles sont visqueuses, entières, de forme oblongue, et aigues (**Mohand Ait Youssef, 2006**). Elles sont alternes, allongées à lancéolées, insérées directement sur la tige (feuilles embrassantes, sans pétiole) (**Fresquet et al., 1993**).

La floraison commence à partir du mois de Septembre, parfois jusqu'à Novembre. Les inflorescences sont de longues grappes fournies de capitules jaunes (**Quezel et Santa, 1963**).

Les fruits sont des akènes blanchâtres, velus, de 1 à 2mm de long, surmontés d'une aigrette de poils qui assure leur dissémination par le vent, comme c'est souvent le cas chez les Astéracées (**Zeguerrouet et al., 2013**).

Toute la plante est couverte de poils glanduleux qui libèrent une résine odoriférante et collante, à odeur de camphre, jugée par certains désagréable (**Quézel et Santa, 1963**).

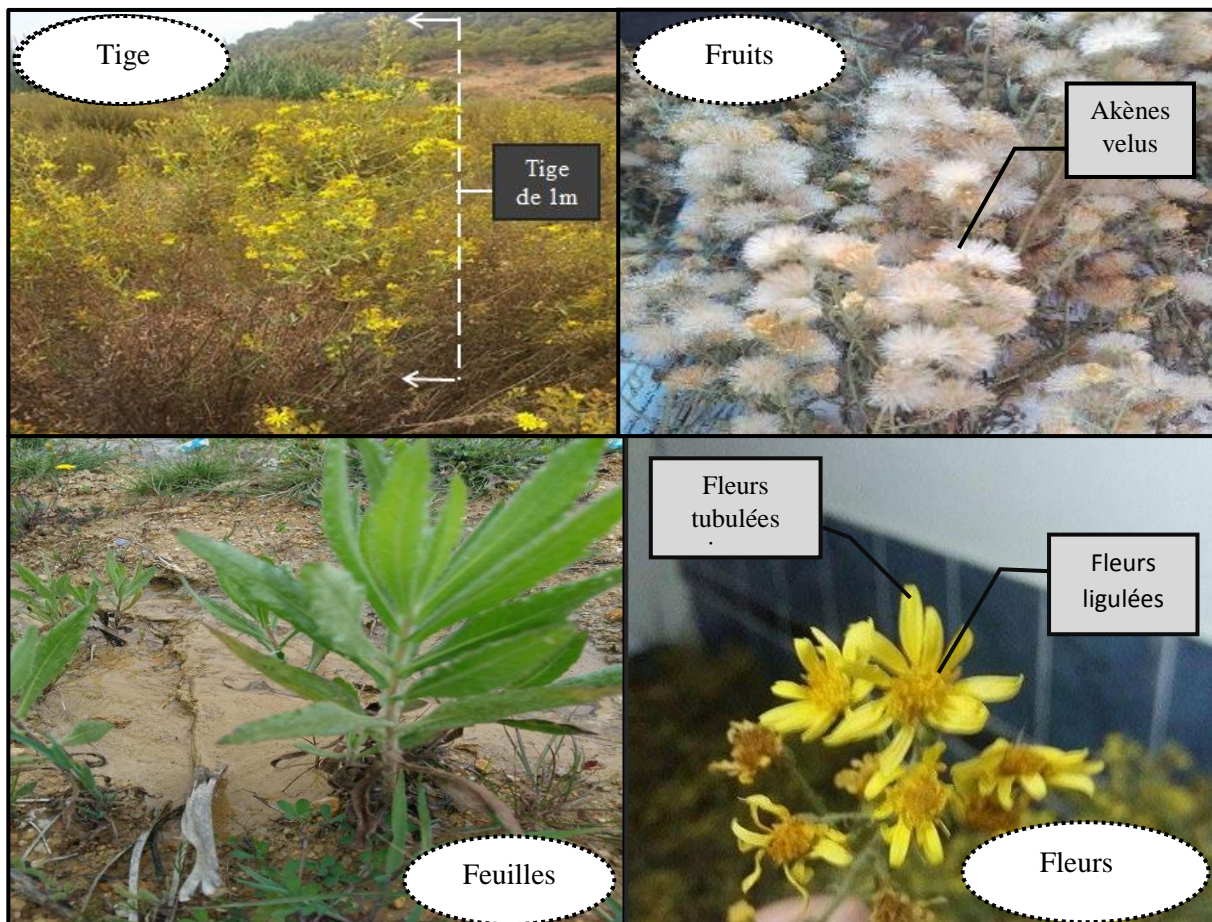


Figure 1. Les différentes parties aériennes d'*Inula viscosa* (**Original, 2017**)

- **Habitat**

Cette plante spontanée est très répandue dans le nord de l'Algérie et dans le bassin méditerranéen, poussant aux bords des cours d'eau, sur les prairies humides (**Benayache, 1991 ; Wenqiao et al., 2004**).

En Algérie, elle est très commune dans le Tell et très rare dans le reste de l'Algérie ; on la trouve surtout dans les garrigues et les rocailles, sur les terrains argileux un peu humides (Mohand Ait Youssef, 2006 ; Benayache, 1991) et sur les lieux incultes ou anciennement cultivés (friches, talus,...) ainsi que les oliveraies non soumises à un désherbage intensif (Jean Baptiste, 1805), mais aussi sur les bords de la route (Wenqiao *et al.*, 2004).

III.4. Usage traditionnelle d'*Inula viscosa*

L'Inule est une plante très anciennement connue, elle a été utilisée au moyen âge jusqu'à nos jours pour ses vertus médicinales variées (Fournier, 1947).

Le tableau illustré ci-dessous, présente les multiples usages traditionnels de l'espèce *Inula viscosa* :

Tableau IV. Usages traditionnels d'*Inula viscosa*

Parties	Usage	Références
Les feuilles	<ul style="list-style-type: none"> Fraiche :abcès, gales, dermatoses, impétigos, furoncles, et les ulcères. 	Hmamouchi, 2001
	<ul style="list-style-type: none"> Comme suc pour : Arrêter les hémorragies, prévenir les inflammations et activer la cicatrisation 	Baba Aissa, 1990
Les Racines	<ul style="list-style-type: none"> En infusion contre : l'hypertension, tuberculose, les affections poitrinaires, les infections respiratoires et bronchiques. 	Bellakhder J, 1997
La partie aérienne	<ul style="list-style-type: none"> Pression artérielle, diabète, pathologies rénales, hypertension, néphropathie 	Eddoukset <i>al.</i>, 2002
Autres utilisations	<ul style="list-style-type: none"> Anti-inflammatoire ; Anti-pérytique et Anti-septique ; Un traitement pour les pathologies gastroduodénales ; Améliore l'appétit et elle est anti-émétique En bain : pour lutter contre le paludisme. 	Al-Dissi N.M <i>et al.</i>, 2001 Barbettiet <i>al.</i>, 1985 L'auro M <i>et Rolih C</i>, 1990 Lastra C <i>et al.</i>, 1993 (Roulier, 1990) (Fournier 1947)

III.5- Activités biologiques de la plante

Inula viscosa, l'astéracée la plus répandue dans les pays méditerranéens, est exploitée pour le traitement de plusieurs maladies (Lauro et Colih, 1990 ; Ali Shtayeh et Abu Ghdeib, 1990 ; Yegen et al., 1992 ; Cohen et al., 2002), suite à ces propriétés thérapeutiques douées d'une gamme élargi d'activités biologiques, démontrées dans de nombreuses études, à savoir :

- Activité anti-inflammatoire (Al Dissi et al., 2001 ; Zeggwaghet al., 2006 ; Mănezet al., 2007),
- Activité anti cartilagineuse (Side Larbi, 2016),
- Activité anti-oxydante (Schinellaetal., 2000),
- Activité antiviral (Sassietal.,2008),
- Activité antitumoral (Rozenblatetal.,2008).
- Activité antifongique (Hamdi et Pacha,1997 ; Maoz et Neemen, 1998 ; Ali Shtayeh et Abu Gheib, 1998 ; Maoz et Coll, 2000 ; Franco et al., 2008 ; Chebouti, 2016),
- Activité conservatrice pour les aliments (Adam et al.,1998 ; Boumaza, 2011) ,
- Son Activité antibactérienne (Hamdi et Pacha,1997 ; Ali Stayeh et Coll, 1998 ; Bssaibiset al., 2009 ; Laghrisi et al., 2013).

III.6. Description des substances à activité antimicrobienne d'*Inula viscosa*

Toutes les substances antimicrobiennes dérivent du métabolisme secondaire. Le métabolisme secondaire dérive du métabolisme primaire et fournit des métabolites à faibles quantités, mais dont l'application dans différents domaines, en particulier à intérêt médical, sont de la plus grande importance (Harbone, 1998).

Les métabolites secondaires ne participent pas directement à la croissance des plantes, mais jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement. Ils la protègent donc contre les attaques des champignons, des bactéries, des insectes et des animaux. C'est dans ce groupe de métabolites que se sont retrouvées les molécules actives. Nous citons parmi ces substances, les composés phénoliques et les composés terpéniques (Smallfield, 2001) :

a) Composés phénoliques

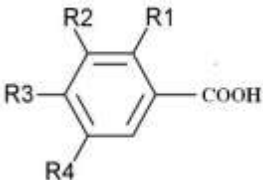
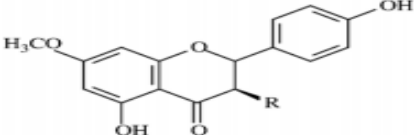
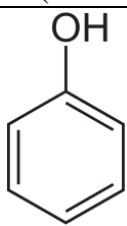
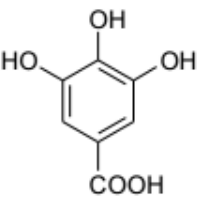
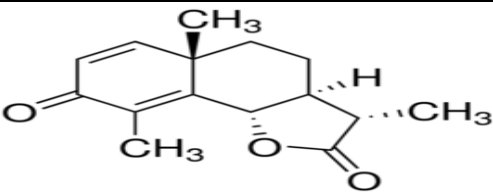
Les phénols ont des fonctions anti-infectieuses et antibactériennes. Ils ont à la fois une propriété antiseptique et désinfectante, ainsi que des propriétés antiparasitaires. Ils se révèlent également comme ayant des propriétés stimulantes, antivirales, antifongiques, et immunisantes. De plus, sont responsables de dégâts irréversibles au niveau de la membrane cellulaire des bactéries (Bennis et Chami, 2004).

b) Composés terpéniques

Les terpénoïdes, appelés aussi terpènes, existent chez toutes les plantes (Bruneton, 1993). Ils jouent de multiples rôles chez les plantes. Certains sont des pigments photosynthétiques (les caroténoïdes) ou des hormones, tandis que les autres sont utilisés en tant que composant de la structure de membrane (les stérols) (Bouharmont, 2014). De plus, ils interviennent contre les attaques microbiennes (Brown et al.,1998).

Les principaux types des composés préalablement cités, présentes chez *I. viscosa* sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau V. Principaux types de composés phénoliques et terpéniques présents chez *I. viscosa*

Types	Structure	Référence
Composés phénoliques		
Composés phénoliques simple		
Acides phénoliques		Sarmi-Manchado et Cheymer, 2006
Flavonoïdes	 <p>Ex : 7-O-methylaromadendrin (Flavonol)</p>	Hernández et al., 2007
Alcools phénoliques		Apostolos et Fereidoon, 2017
Composés phénoliques complexes		
Tanins		Guignard, 1996
Composés terpéniques		
Les acides sesquiterpéniques		Oksöz, 1976 (Bicha, 2003).
Les triterpènes esters	<p>Ex : α santonine (sesquiterpène lactone)</p>	Bohlman et al., 1977

III.7- Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

Pour une analyse scientifique des extraits de plantes, différentes méthodes d'évaluation de l'efficacité de celle-ci sont utilisées :

III.7.1. Méthode de diffusion

a) Méthode de diffusion sur milieu gélosé

« L'aromatogramme est à la Phytothérapie ce que l'antibiogramme décrit par la pharmacopée française des antibiotiques est à la médecine » (**Belaiche, 1979**). Cette méthode est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques, testant l'action des antibiotiques sur les microorganismes en mesurant leurs zones d'inhibition. Cette méthode présente l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de pouvoir s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (**Fauchère et Avril, 2002**). Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de Pétri.

Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée d'extrait.

b) Méthode de puits ou cylindres

Proposé par Cooper et Woodman en 1946, reprise par **Shroder et Messing (1949)**, elle mesure une diffusion radiale de l'extrait à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable. Elle consiste à découper un tronc circulaire vertical dans la gélose et d'y verser une solution d'extrait de concentration connue. L'extrait diffusant radialement créant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne (**Dorman et Deans, 2000**).

II.7.2.Méthode de dilution en milieu liquide

La méthode de dilution en milieu liquide est généralement utilisée pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices. Dans le milieu de culture, des volumes d'extraits sont introduits pour des concentrations précises. Un même volume d'homogénat obtenu est ensuite coulé dans des puits. L'inoculum y est ensuite ajouté. Après incubation, la CMI est déterminée soit par colorimétrie (**Eloff, 1998**) ou par observation de la turbidité (**Santos et Hamdan, 2005**).

Matériels et **M**éthodes

I. MATERIEL ET METHODE

Notre étude se déroule en trois axes principaux :

- Le premier axe, rapporte l'isolement, l'identification et profil de résistance des bactéries provenant de différents types de prélèvements,
- Le deuxième axe, regroupe l'extraction des composés polyphénoliques et l'étude quantitative de ces derniers, ainsi les flavonoïdes.
- et le troisième axe, repose sur l'évaluation du pouvoir antibactérien des divers extraits préparés à partir de notre plante, sur les souches isolées, *in vitro* par de différentes techniques microbiologiques.

I.1- MATERIEL

I.1.1- Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes d'*Inula viscosa*. Les sommités fleuries ont été cueillies en mois de Septembre, alors que les feuilles ont été récoltées en mois de Mars, de la région de Sidi Mouss située à 17 km du centre de la wilaya de Tipaza.

Les échantillons ont été séchés à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, puis broyés grossièrement dans un moulin électrique. Les poudres ainsi obtenues ont été conservées dans des boîtes hermétiques en plastique.

I.1.2- Autres matériels

Tous matériels biologiques (différents types de prélèvements), non biologiques (verreries, outils, et appareils), et produits chimiques utilisés durant cette étude sont présentés en **Annexe 1**.

I.2- METHODE

I.2.1- Isolement et identification des germes pathogènes

Notre étude s'est déroulée durant une période de 02 mois et demi : du 04 Juin au 17 Aout 2017, elle porte sur des patients hospitalisés dans différents services de l'Etablissement Hospitalisé Spécialisé El Hadi Flici ex El Kettar de la wilaya d'Alger.

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignement (**Annexe 1**) qui comporte :

- Nom et prénom.
- Age et sexe.
- Service d'hospitalisation.
- Nature de prélèvements.
- Antibiothérapie en cours.

I.2.1.1- Techniques de Prélèvement

a) Prélèvement d'urine

Après lavage hygiénique des mains et toilette soigneuse des organes génitaux externes, on recueille de préférence les urines du matin.

Après élimination du premier jet, les urines sont recueillies dans un tube stérile (environ 10 à 20 ml), le tube est fermé hermétiquement et porté au laboratoire dans une demi-heure, sinon il faut le placer dans de la glace.

Chez les nouveaux nés et les petits enfants, un collecteur stérile spécifique est utilisé. Ce dispositif à usage unique se pose après désinfection soigneuse du périnée. A la fin de la miction, le collecteur est ôté et fermé hermétiquement et acheminé rapidement au laboratoire et, en cas de retard, conservation à +4°.

Chez le patient porteur d'une sonde urinaire, il ne faut en aucun cas prélever dans le sac collecteur, le recueil est effectué par ponction à l'aide d'une seringue dans la paroi de la sonde après désinfection. On distingue le sondage avec des systèmes ouverts qui sont de moins en moins utilisés et le sondage avec un système fermé est plus représentatif, car il s'oppose à la colonisation par les bactéries grâce aux valves anti retour.

b) Prélèvement des selles

Les selles sont recueillies dès leur émission dans un pot propre, de préférence les selles du matin, le prélèvement est acheminé immédiatement au laboratoire.

c) Prélèvement sanguin

Le sang est recueilli par ponction veineuse au niveau du pli de coude à l'aide d'un dispositif à usage unique, la peau est désinfectée à l'aide de l'alcool qu'on le laisse agir pendant une minute.

Une quantité suffisante du sang est prélevée : 5-10 ml par flacon chez l'adulte, 1-2 ml chez l'enfant, et est ensemencée directement dans des flacons pour hémocultures après désinfection du capuchon.

d) Prélèvements de LCR

Le prélèvement doit être effectué dans des conditions rigoureuses d'asepsie dans des tubes stériles, par ponction lombaire obligatoirement par le médecin traitant. Le prélèvement est immédiatement acheminé au laboratoire.

e) Prélèvements de pus

Dans le cas où le pus est localisé dans un abcès superficiel fermé ou dans une cavité séreuse, le pus est récolté par ponction à l'aide d'une seringue stérile et cela après une désinfection soigneuse de la peau.

Dans le cas des abcès ouverts, plaies suppurées ou pustules et les fistules où le pus s'écoule à l'extérieur, le prélèvement alors se fait à l'aide d'un écouvillon après désinfection de la plaie. Le prélèvement est effectué dans la partie la plus profonde de la plaie tout en évitant la contamination par la flore cutanée saprophyte. L'écouvillon doit être acheminé au laboratoire et humidifié par un bouillon afin d'éviter la dessiccation de prélèvement.

I.2.1.2- Méthodologie de diagnostic

Les milieux utilisés et l'interprétation des résultats dépendent de la nature du prélèvement à analyser.

a) Étude cyto bactériologique des urines.

L'ECBU a pour but d'exclure ou d'affirmer l'existence d'une infection du tractus urinaire.

Après un état frais des urines, on réalise une numération à l'aide d'une anse calibrée de 10µl, on ensemence 04 stries parallèles sur une gélose nutritive (GN). Les boîtes sont incubées à 35°C pendant 18H à 24H. Une culture est dite positive lorsque les numérations sont supérieures ou égales à 10⁵ bactérie/ml et d'aspect monomicrobien, on peut identifier deux types de bactéries dans le cas d'une uropathie.

b) Coproculture

La coproculture a pour objet de mettre en évidence la bactérie responsable d'une diarrhée infectieuse.

Après un examen microscopique des selles, on opte à la réalisation des différentes étapes représentées dans la **Figure 2**.

Sur chaque boîte on recherche les bactéries entéro pathogènes à savoir *Shigella spp*, *Salmonella spp*. et *Esherichia coli* entéro pathogènes (EPEC) chez les patients moins de 02 ans.

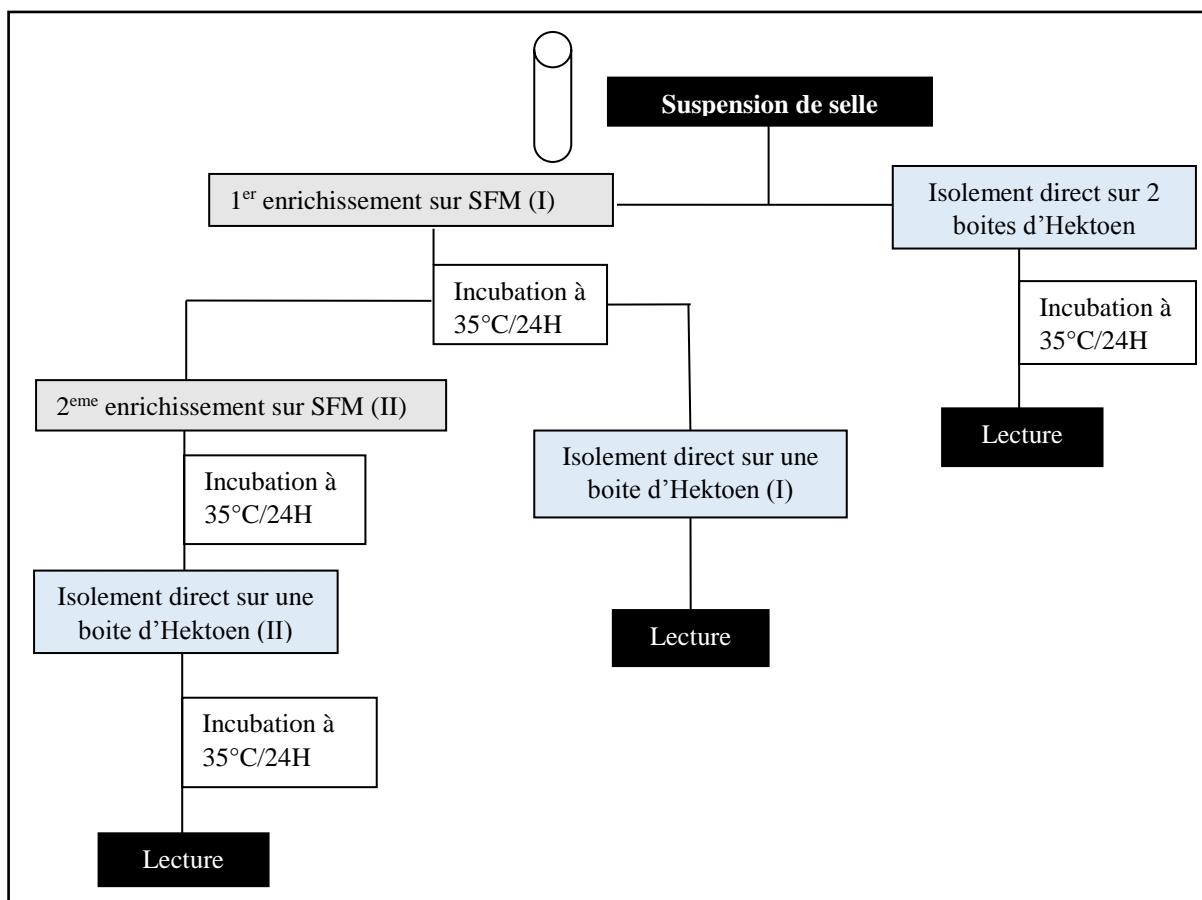


Figure 2. Schéma d'isolement à partir des selles.

c) Hémoculture

L'hémoculture se donne pour objet la recherche de bactérie dans le sang, ce qui témoigne d'une bactériémie ou d'une septicémie.

Après désinfection du bouchon du flacon d'hémoculture, on prélève à l'aide d'une seringue stérile, quelques gouttes du sang qu'on ensemence sur une gélose au sang cuit (GSC), les boîtes sont incubées dans une atmosphère enrichie de 5% à 10% de CO₂ à 35°C pendant 24H à 48H, un isolement sur une gélose Hektoen (GH) pour les bacilles à Gram négatif oxydatif. Des repiquages sont réalisés pour J1, J3, J10 et pour tous les flacons présentant des signes de positivité macroscopique (trouble, hémolyse, dépôt, voile en surface).

Pour les prélèvements d'hémoculture reçus dans les flacons à détection automatisé BacT-ALERT, ils sont enregistrés et placés dans l'automate BacT-ALERT 3D combination, qui fonctionne grâce à une technologie colorimétrique développée par BioMérieux, la croissance des microorganismes dans chaque flacon est constamment surveillée par un réflectomètre très sensible. Tout changement de statut des flacons est enregistré par un signal sonore et visuel.

Toute hémoculture indiquée positive, une subculture de l'échantillon de sang est réalisée sur les milieux GH et GSC.

d) Étude cytot bactériologique du LCR

Après un examen macroscopique, numération sur cellule de Malassez et un frottis coloré pour les LCR à cytologie positive, on prélève un volume qu'on ensemence sur une GSC, les boîtes sont incubées dans une atmosphère enrichie de 5% à 10% de CO₂ à 35°C pendant 24H à 48H, un isolement sur une GH pour les bacilles à Gram négatif oxydatif.

e) Étude cytot bactériologique du pus

Après un examen direct par état frais ou coloration au bleu de méthylène en fonction du prélèvement, on ensemence quelques gouttes par stries, sur une GSC, une GN, une gélose Chapman et une GH, tout en réalisant un enrichissement dans un flacon de BacT-ALERT.

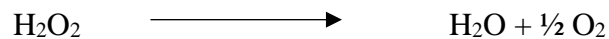
En cas de positivité de BacT-ALERT, on ensemence les mêmes milieux de culture. L'incubation est faite à 35°C pendant 24H à 48H, les boîtes de GSC et gélose au sang au frais (GSF) sont incubées dans une atmosphère enrichie de 5% à 10% de CO₂, alors que les géloses Chapman, Hektoen, et GN sont incubées dans l'étuve.

I.2.1.3- Identification

La première étape d'identification consiste à réaliser ; une coloration de Gram (**Annexe 1**), recherche d'une catalase et oxydase.

➤ Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), produit du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries en H₂O et ½ O₂ :



✚ Technique

Prendre une lame porte-objet propre. Déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et émulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose.

✚ Lecture :

- Une réaction positive se manifeste par la présence de bulles ;
- Une réaction négative ne donne pas de bulles (**Figure 3**).

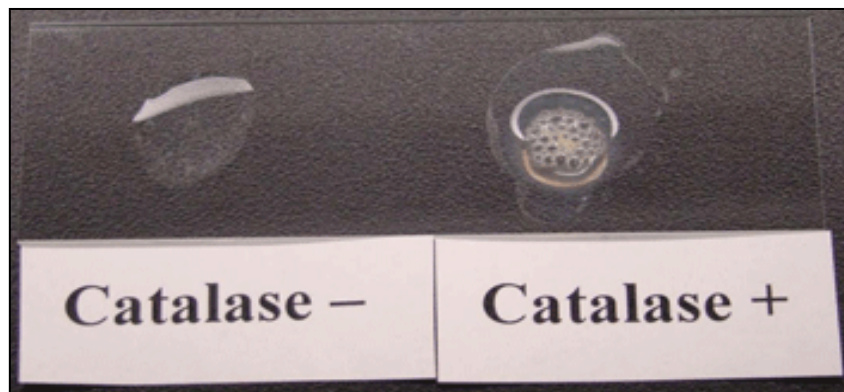


Figure 3. Le résultat positif et négatif de la catalase (Original, 2017)

➤ Recherche de l'oxydase

Le disque de papier filtre imprégnés de réactif : l'oxalate de N-diméthylparaphénylène diamine, qui est incolore sous forme réduite et rouge-violet sous forme oxydée a été utilisé.

✚ Technique

Déposer, sur une lame porte-objet propre, un disque « Ox » et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile. Prélever une partie de la colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

I.2.1.3.1- Identification des entérobactéries

L'identification des entérobactéries est basée sur les caractères de la famille (bacilles à Gram négatif non exigeants, métabolisme fermentaire, aéro-anaérobies, nitrate réductase positive, oxydase négative), la galerie biochimique suivante est réalisée afin de déterminer le genre et l'espèce :

- Étude de métabolisme glucidique sur gélose TSI et sur milieu Clark et Lubs.
- Étude de métabolisme peptidique par la dégradation des acides aminés sur milieu Moeller, recherche d'uréase, production d'indole, et d'une TDA sur milieu urée-indole.
- Utilisation du citrate sur milieu citrate de Simmons. (La composition de ces milieux est donnée en (Annexe 1).

Pour certaines souches l'identification est obtenue par une galerie API 20E (la technique est donnée en (Annexe 1).

Pour les souches isolées en coproculture, un sérotypage est réalisé pour le genre *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* et *E. coli* par la technique d'agglutination sur plaque.

I.2.1.3.2- Identifications des bacilles à Gram négatif non fermentaires

I.2.1.3.2.1- Identification des souches d'*Acinetobacter spp.*

Les souches ayant les caractéristiques suivants ; colonies blanchâtres et muqueuses sur les géloses, lactose négatif, bacilles à Gram négatif et oxydase négative sont réisolées sur gélose Hektoen. L'identification des souches est faite par une galerie API 20 NE (la technique est présentée dans l'**Annexe 1**).

I.2.1.3.2.2- Identification des souches de *Pseudomonas spp.*

L'identification présomptive des souches de *Pseudomonas* est basée sur la pigmentation verdâtre des colonies sur les géloses, lactose négatif, oxydase positive et bacilles à Gram négatif, les colonies caractéristiques sont purifiées sur GH.

L'identification de certaines souches est obtenue par une galerie API 20NE.

I.2.1.3.3- Identification des souches de *Staphylococcus spp.*

L'identification des souches est réalisée en suivant une procédure de plusieurs étapes successives, basée sur la recherche et la détermination d'un certain nombre de caractères, dont :

- a) **Caractères culturels** : sur les milieux usuels, les colonies de staphylocoques sont circulaires, opaques, légèrement bombées ou aplaties. la pigmentation des colonies peut varier du blanc (SCN) au jaune ou au jaune orangé (*S.aureus*).
- b) **Caractères microscopiques** : les staphylocoques apparaissent comme des cocci à Gram positif. Ils peuvent être isolés, en diplocoques ou en amas, l'aspect en grappe étant alors le plus caractéristique.
- c) **Caractères biochimiques et métaboliques** : l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques
 - Catalase : les staphylocoques sont catalase positive.
 - Test rapide d'orientation : en pratique, différents tests peuvent être utilisés pour le diagnostic différentiel entre *S.aureus* et les autres espèces, dont :

Test d'agglutination PASTOREX™ STAPH-PLUS :

- Principe

PASTOREX™ STAPH-PLUS est un test rapide d'agglutination sur lame pour la détection simultanée du facteur d'affinité pour le fibrinogène, également appelé **coagulase liée** ou « clumping factor », de la protéine A et des polysaccharides capsulaire de *S. aureus*.

Ce réactif est constitué de particules de latex sensibilisées avec du fibrinogène, des IgG et des anticorps monoclonaux spécifiques de polysaccharides capsulaires de *S.aureus*.

- Technique

- On Dépose une goutte de réactif latex test dans un des cercles de la carte d'agglutination.
- On prélève 1 à 3 colonies de cocci Gram positif, catalase positif avec un bâtonnet en plastique, puis on les émulsionne avec la goutte de latex pendant 10 secondes.
- On homogénéise en effectuant un mouvement rotatif de la carte. La lecture doit se faire pendant les 30 secondes qui suivent le début des mouvements rotatifs de la carte.

- Lecture :

Une réaction est positive lorsqu'il y a formation d'agglutinats, visible à l'œil nu sous un éclairage normal, en moins de 30 secondes (**Figure 4**).



Figure 4. Test d'agglutination PASTOREX positif (**original, 2017**)

✚ Détermination du profil biochimique (API Staph)

La détermination de l'espèce peut être réalisée à l'aide de la galerie biochimique miniaturisée d'identification API Staph (Voir **Annexe 1**). Ce système est utilisé pour l'identification des genres *Staphylococcus* et *Micrococcus*

I.2.1.3.4- Identification des souches de *Streptococcus spp.*

L'identification des streptocoques (Annexe 1) est basée sur :

- a) **Les caractères culturels :** colonies transparentes ou grisâtres, bombés à une face lisse.
- b) **Les caractères microscopiques :** Des coques à Gram positif, en chainettes, diplocoques ou en flamme de bougie.
- c) **Les caractères biochimiques et métaboliques :**
 - Catalase négative à l'inverse des Staphylocoques.

- Observation de la réaction de l'hémolyse : L'habileté des bactéries à lyser les cellules du sang contenues dans la gélose au sang frais est une caractéristique importante et utile pour leur identification.

Typiquement, trois formes de lyse sont observées :

- ✓ **Bêta-hémolyse** : C'est une lyse complète des globules rouges du sang. L'espace autour de la colonie bactérienne apparaîtra clair (ex : *Streptocoque* de groupe A).
- ✓ **Alpha-hémolyse** : C'est une lyse incomplète des globules rouges du sang. L'espace autour de la colonie bactérienne apparaîtra verdâtre (ex : *Streptococcus pneumoniae*).
- ✓ **Hémolyse Gamma** : Ce n'est pas une lyse des cellules du sang. L'espace autour de la colonie bactérienne apparaîtra normal. Dans ce cas il n'existe aucune évidence de lyse des globules rouges et aucune clarté ou aspect verdâtre n'est observée autour des colonies (ex : *Enterococcus*).

d) Test d'Optochine

Le test à l'Optochine est une procédure simple utilisée pour l'identification de *Streptococcus pneumoniae*. Le disque d'Optochine (OPT) contient 5 μ g de chloro-hydrate d'éthylhydrocupréine qui inhibe la croissance de *S. pneumoniae* (**Figure 5**).

- Technique

Après avoir prélevé une colonie suspectée alpha-hémolytique, on réalise un isolement sur gélose au sang frais avec une culture pure de la souche à tester. Un disque d'Optochine est placé dans la partie la plus riche de l'isolement. La boîte est incubée par la suite dans une jarre enrichie en CO₂, à l'étuve de 37° C pendant 24H.

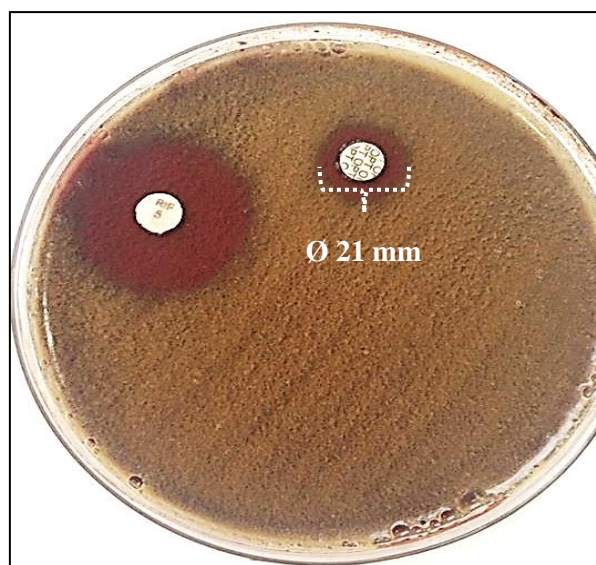


Figure 5. Test d'Optochine positif (Original, 2017)

- Lecture :

→ Inhibition de croissance autour du disque d'Optochine d'une zone ≥ 14 mm : indique une *S.pneumoniae*.

→ Inhibition de croissance autour du disque d'Optochine d'une zone < 14 mm : indique un autre streptocoque alpha hémolytique.

e) Test de Bacitracine

Il permet de tester la sensibilité des streptocoques de groupe A vis-à-vis de la Bacitracine.

- Technique

Après avoir prélevé une colonie suspectée *Streptococcus* β -hémolytique (SBH), on réalise un isolement sur gélose au sang frais avec une culture pure de la souche à tester. Un disque de Bacitracine est placé dans la partie la plus riche de l'isolement. La boîte est incubée par la suite dans une jarre enrichie en CO_2 , à l'étuve de 37°C pendant 24h.



Figure 6. Test de Bacitracine négatif (Original 2017)

- Lecture

→ Inhibition de croissance autour du disque de Bacitracine d'une zone ≥ 15 mm : la bactérie est sensible à la Bacitracine, et on s'oriente vers un streptocoque de groupe A (*S. pyogenes*).

→ Inhibition de croissance autour du disque de Bacitracine d'une zone < 15 mm : la bactérie est résistante à la Bacitracine, on s'oriente vers un autre groupe de SBH, identifiés par test d'agglutination des groupes de streptocoques.

f) Identification et groupage des streptocoques β -hémolytiques

On utilise pour cela des Kits STREPTEX commercialisés par diagnostique Pasteur pour le groupage des SBH isolées. C'est un système d'agglutination rapide pour les SBH, appartenant aux principaux groupes de LANCEFIELD. L'identification des SBH se base sur la présence de polysaccharides spécifiques de groupe qui nécessite au préalable l'extraction de leur groupe à partir des colonies isolées sur gélose au sang frais.

Les étapes procédées pour l'identification et le groupage des SBH par les kits STREPTEX, sont représentées en **Annexe 1**.

I.2.2- Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité de toutes les souches vis-à-vis les différentes familles d'antibiotiques est testée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH) selon les recommandations du CLSI 2008 (**Rahal *et al.*, 2008**).

Les tableaux suivants montrent les listes des antibiotiques qu'on a testé pour chaque souche bactérienne en suivant le fascicule « La standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale » selon **Rahal *et al.*, (2008)**.

Tableau IV : Antibiotiques testés pour les entérobactéries

Antibiotiques	Abréviations	Charge (μ g)	Famille
Ampicilline	AMP	30	β – lactamines
Amoxicilline + Acide clavulanique	AMC	20+10	
Céfazoline	CZ	30	
Céfotaxime	CTX	30	
Céfoxitine	FOX	30	
Imipénème	IMP	10	
Gentamycine	GM	10	Aminosides
Amikacine	AK	30	
Acide nalidixique	NA	30	Quinolones
Ciprofloxacine	CIP	5	
Chloramphénicol	C	30	Phénicoles
Triméthoprime- sulfaméthoxazole	SXT	1.25 + 23.75	Sulfamides
Colistine	CL	50	Polymyxine
Furane	FT	100	Nitrofurane

Tableau V : Antibiotiques testés pour les souches de *Pseudomonas spp.*

Antibiotiques testés	Abréviations	Charges (μg)	Famille
Ticarcilline	TIC	75	β -lactamines
Ticarcilline ac.clavulanique ⁺	TCC	75 + 10	
Pipéracilline	PIP	100	
Céftazidime	CAZ	30	
Imipénème	IMP	10	
Aztréonam	AZ	30	
Amikacine	AK	30	Aminosides
Gentamicine	GM	10	
Tobramycine	TM	10	
Nétilmicine	NT	CMI	
Ciprofloxacine	CIP	5	Quinolones
Lévofloxacine	LVX	5	
Doxycycline	DOX	30	Tetracyclines
Colistine	CL	CMI	Polymyxine

Tableau VI : Antibiotiques testés pour les souches d'*Acinetobacter spp.*

Antibiotiques testés	Abréviations	Charges (μg)	Famille
Ticarcilline	TIC	75	β -lactamines
Ticarcilline ac.clavulanique ⁺	TCC	75 + 10	
Pipéracilline	PIP	100	
Céftazidime	CAZ	30	
Imipénème	IMP	10	
Amikacine	AK	30	
Gentamicine	GM	10	
Tobramycine	TM	10	
Nétilmicine	NT	CMI	
Ciprofloxacine	CIP	5	Quinolones
Lévofloxacine	LVX	5	

Tableau VII : Antibiotiques testés pour les streptocoques β hémolytiques.

Antibiotiques testés	Abréviations	Charges (μg)	Famille
Ampicilline	AMP	10	β -lactamines
Pénicilline	P	10	
Gentamicine	GM	500	
Ofloxacin	OFX	5	Quinolones
Lévofoxacin	LVX	5	
Erythromycine	E	15	Macrolides
Clindamycine	CD	15	
Pristinamycine	PT	15	
Quinopistine-dalfopistine	QDA	15	
Rifampicine	Rif	30	Rifamycine
Vancomycine	VA	30	Glycopeptides
Chloramphénicol	C	30	Phénicoles
Tétracycline	T	30	Cyclines

Tableau VIII : Antibiotiques testés pour les souches de *Staphylococcus spp.*

Antibiotiques	Abréviations	Charges (μg)	Familles
Oxacilline	OX	CMI	β -lactamines
Céfoxitine	FOX	30	
Gentamicine	GM	10	Aminosides
Kanamycine	KA	30	
Amikacine	AK	30	
Erythromycine	E	15	Macrolides
Clindamycine	CD	2	
Vancomycine	VA	CMI	Glycopeptides
Teicoplanine	TEC	30	
Ofloxacin	OFX	30	Quinolones
Lévofoxacin	LVX	5	
Ciprofloxacine	CIP	5	
Chloramphénicol	C	30	Phénicoles

Triméthoprime-sulfaméthoxazole	SXT	1.25 + 23.75	Sulfamides
Rifampicine	RIF	5	Rifamycines
Acid fuscidique	FA	10	Autre
Tétracycline	T	30	Cyclines

Tableau IX : Antibiotiques testés pour les souches de *Neisseria meningitidis*.

Antibiotiques	Abréviations	Charge (µg)	Familles
Pénicilline G	PEN G	CMI	β-lactamines
Ampicilline	AMP	CMI	
Rifampicine	RIF	5	Rifamycines
Chloramphénicol	C	30	Phénicoles
Ciprofloxacine	CIP	5	Quinolones

a) Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture pure et jeune de 18H à 24H sur milieu d'isolement approprié, on prélève à l'aide d'une pipette pasteur stérile quelques colonies bien isolées qu'on dissocie dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile à 0.9%, bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité est ajusté à 0,5 McFarland (correspondant à environ 10^8 bactéries/ml) à l'aide d'un densitomètre.

b) Ensemencement

L'ensemencement est réalisé par la méthode d'écouvillonnage ; on trempe l'écouvillon dans la suspension bactérienne, on frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface, de haut en bas, en stries serrées. On répète l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. On dépose les disques d'antibiotiques à tester. On incube les boîtes pendant 24H à 35°C.

c) Lecture

On mesure les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques à l'aide d'un pied à coulisse.

L'interprétation en sensible (S) intermédiaire (I) ou résistante (R) est effectuée selon les critères définis par les recommandations de CLSI 2008 (**Annexe 1**).

d) Tests complémentaires :

Pour certains antibiotiques ou familles d'antibiotiques, l'antibiogramme standard n'est pas suffisant et des tests complémentaires doivent être effectués avant une interprétation définitive.

Ces tests complémentaires sont résumés dans le tableau X, représenté ci-après :

Tableau X : Tableau récapitulatif des différents tests complémentaires.

	Résistance Oxacilline	BLSE	Production d'une carbapénèmase	CMI (E-test)	Résistance inducible à la CD
<i>Staphylococcus spp.</i>	X			TP VA	X
<i>Streptococcus pneumoniae</i>					X
<i>Enterococcus spp.</i>				VA	
<i>Streptococcus β</i> – hémolytique					X
Entérobactéries		X	X		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		X	X		
<i>Acinetobacter spp.</i>		X	X	NT CL	

I.2.2.1- Test de Hodge modifié ou test du double disque (TDD) :

Ce test est fait pour les souches qui ne présentent pas une image de synergie, avec diminution des diamètres des céphalosporines de 3^{ème} génération et pour déterminer s'il y a production d'une BLSE.

✚ Technique

- Pour les entérobactéries on dépose un disque d'AMC et un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (céfotaxime) à une distance de 30mm (centre à centre).
- Pour *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp* on dépose un disque de TCC avec un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (ceftazidime) ou monobactam (aztréonam) à une distance de 30mm.
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse).
- Après diffusion, on enlève le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de céfotaxime, ceftazidime ou aztréonam selon la souche.
- On incube la boîte 37°C pendant 24 H.

✚ Lecture

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération, ce qui indique une production d'une BLSE (OMS, 2008).

I.2.2.2- Détection de la résistance inductible à la clindamycine

La détection de la résistance inductible à la clindamycine se fait le plus souvent par la technique de diffusion des disques.

Tableau XI : Technique de la détection de la résistance inductible à Clindamycine

Technique Diffusion des disques		
Bactéries	<i>Staphylococcus spp.</i>	Streptocoques β -hémolytiques <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Milieu	Gélose MH	Gélose MH additionné de 5% de sang de mouton
Concentration d'antibiotique	E : 15 μ g CD : 2 μ g Espacés de 15 à 26 mm	E : 15 μ g CD : 2 μ g Espacés de 12mm
Inoculum	0.5 McF	0.5 McF
Conditions d'incubation	35 \pm 2°C Atmosphère ordinaire	35 \pm 2°C Atmosphère à 5% CO ₂
Contrôle de qualité	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619
Résultats et interprétation	Aplatissement de la zone d'inhibition adjacente au disque d'E (double zone) = résistance inductible à la CD.	

I.2.2.3- Screening test pour la détection de la résistance à la méticilline (résistance à l'oxacilline) chez *Staphylococcus spp***Tableau XII** : Screening test OXA

Screening test	Résistance à l'OXA
Groupe de micro-organismes	<i>Staphylococcus aureus</i>
Méthode	Dilution en milieu gélosé
Milieu	Gélose MH + 4% NaCL
Concentration d'antibiotique	6 μ g/ml d'OXA
Inoculum	0.5 MF. A l'aide d'une anse calibrée de 1 μ l, déposer un spot sur une surface de 10 à 15 mm de diamètre.
Condition d'incubation	37°C, atmosphère ordinaire
Durée d'incubation	24H
Résultats et interprétation	>1 colonie ou culture sous forme d'un voile fin : OXA R
Commentaires et rendu des résultats	Les souches OXA R sont résistantes à toutes les β -lactamines

I.2.2.4- CMI par bandelettes E-test

Cette technique, utilisant des bandes imprégnées d'un gradient de concentrations d'antibiotiques, permet d'obtenir simplement et rapidement une détermination de la CMI, dans les mêmes conditions que l'antibiogramme standard. En routine, elle constitue une alternative acceptable à la méthode de référence. La valeur de la CMI correspondant à l'intersection entre l'ellipse de non culture et la bandelette.

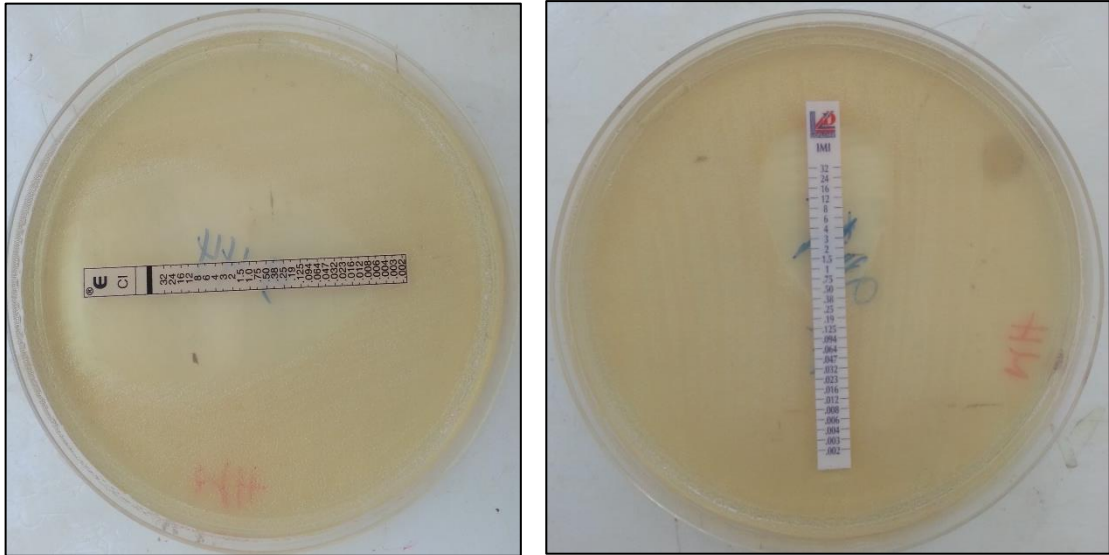


Figure 7. CMI des antibiotiques de la souche *Enterobacter cloacae* par E-test (à droite CMI Imipenème, à gauche CMI Colistine) (**Originale, 2017**)

I.2.3- Etude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux *in vitro*

I.2.3.1- Préparation des extraits bruts

Cette partie du travail a été réalisée au niveau du laboratoire de biotechnologie végétale du Département d'Agronomie de l'Université de Blida 1, durant une période de 21 jours : du 2 au 21 Avril 2017.

Les différents types d'extraits ont été préparés à partir de la poudre des feuilles et fleurs d'*Inula viscosa* (**Figure 7**).

L'extraction a été effectuée selon la méthode décrite par **Zihiri et al., (2003)** qui consiste de macérer du matériel végétal dans des solvants à polarité croissante : méthanol (MeOH), chloroforme (CHCl₃), hexane (C₆H₁₄).

Pour ce faire, 10g de poudre végétal est macérée dans 100ml de solvant organique sous agitation douce pendant 72H à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'extrait récupéré dans un premier temps est filtré du mélange à l'aide du papier filtre. Le solvant est ensuite éliminé du filtrat par évaporation dans un Rotavapor à 60°C. L'extrait ainsi obtenu est conservé au réfrigérateur à 4°C.

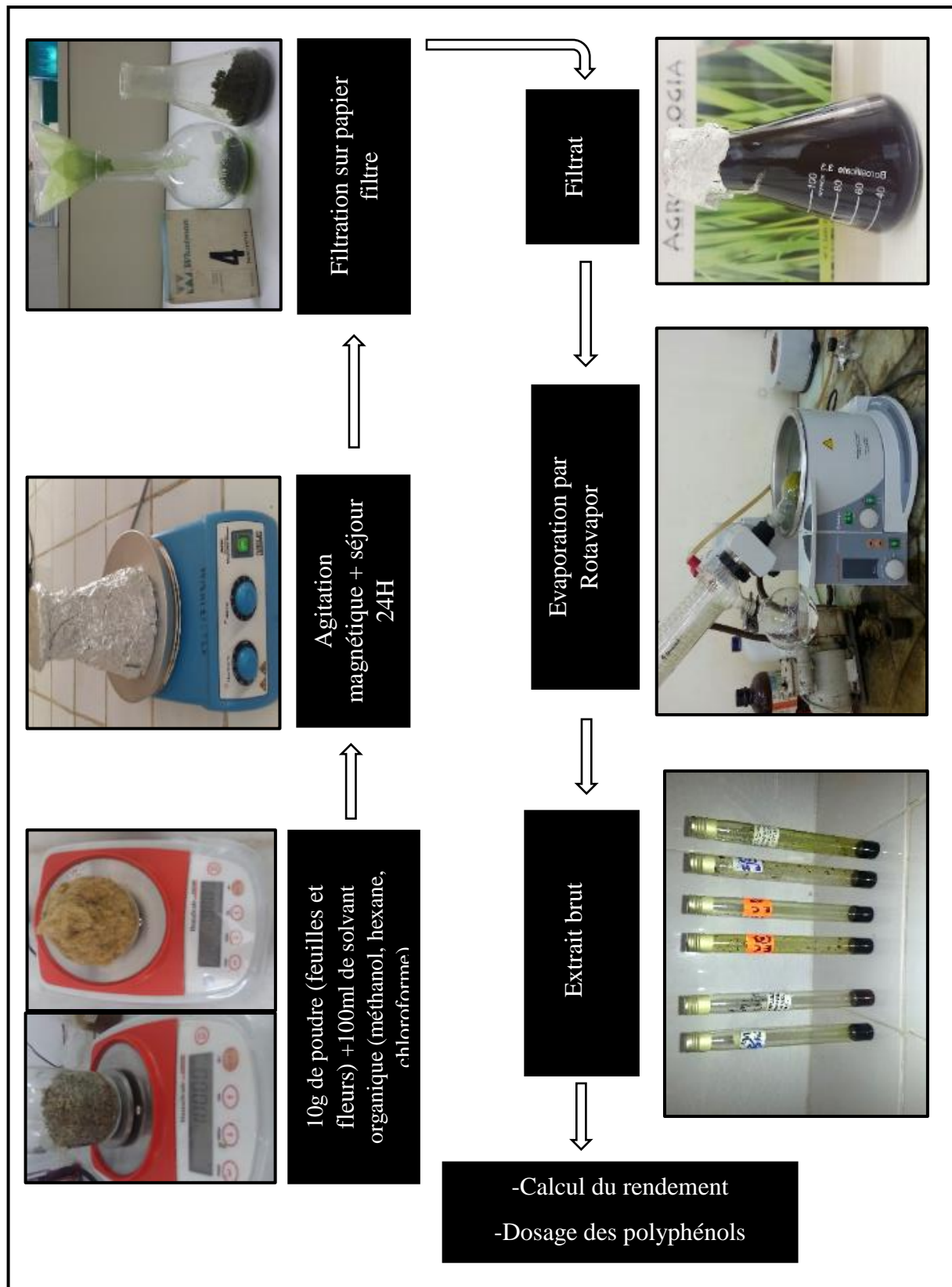


Figure 8 : Différents étapes d'extraction des polyphénols par les solvants organiques

I.2.3.1.1- Calcul du rendement

Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir de la poudre végétale. Il est exprimé en pourcentage ou est sans unité. En pratique, on a fait le rapport de la masse de l'extrait sur la masse de la poudre végétale qui a servi pour l'extraction qu'on a multiplié par 100. Ceci se traduit par la formule donnée par Harbone (1980) :

$$R\% = 100 \text{ Mext/Méch}$$

R : rendement d'extraction en %.

Mext : masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

Méch : masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

I.2.3.2- Dosage des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques totaux ont été estimés selon la méthode colorimétrique basée sur le réactif de Folin Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Le réactif est formé d'acide phosphotungestique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) qui sont réduits lors de l'oxydation des composés phénoliques en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3).

Pour cela 100 μl de l'extrait brut est mélangés à 200 μl du réactif de Folin et 3,16 ml de H_2O . Le mélange est incubé à température ambiante pendant 3 minutes. Ensuite 600 μl de la solution carbonate de sodium (Na_2CO_3) anhydre 20 % sont ajoutés au mélange.

Les composés phénoliques totaux sont déterminés à l'aide d'un spectrophotomètre à UV (Ultraviolet) visible après 2 heures d'incubation à température ambiante par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 765 nm. On prépare dans les mêmes conditions un témoin avec de l'eau distillée à la place de la solution de l'extrait brut. La quantification est faite selon une gamme-étalon établie dans les mêmes conditions avec de l'acide gallique (0 à 100 $\mu\text{g/ml}$). Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique par ml d'extrait.

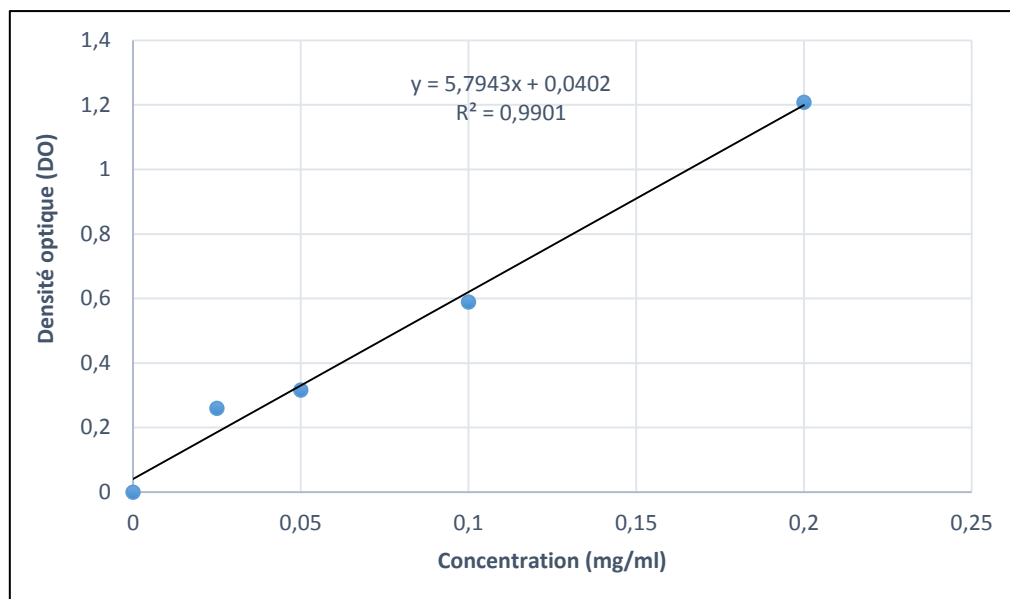


Figure 9. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

I.2.3.3- Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d'**Abdel-Hameed (2008)**

La teneur en flavonoïdes est déterminée par la méthode du chlorure d'aluminium qui utilise la rutine comme composé de référence. Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe flavonoïdes-aluminium dont l'absorbance maximale est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 415 nm.

A partir de l'extrait méthanolique et chloroformique de deux organes (10mg/ml), 100µl sont prélevés et mélangés à 100µl d'une solution de trichlorure d'aluminium (à 20 % dans du méthanol). Une goutte d'acide acétique est ajoutée. L'ensemble est dilué avec 5ml de méthanol. Après incubation à une température ambiante pendant 40 minutes, la lecture de la DO se fait à une longueur d'onde de 415 nm.

Le blanc est préparé avec 100µl d'extrait méthanolique de deux organes de la plante et une goutte d'acide acétique. L'ensemble est dilué avec 5ml de méthanol.

La lecture de l'absorbance du standard (rutine à 0,5 mg/ml) est effectuée dans les mêmes conditions opératoires que l'échantillon. La teneur en flavonoïdes est déterminée selon la formule suivante en rutine équivalence (RE) :

$$X = \frac{A \cdot m_0}{A_0 \cdot m}$$

X= teneur en flavonoïdes (mg/mg).

A= Absorbance de l'échantillon.

A_0 = Absorbance de standard (rutine).

m = Masse de l'échantillon.

m_0 = Masse de la rutine.

I.2.3.4- Sensibilité des souches vis-à-vis les différents extraits d'*I. viscosa* par méthode de diffusion sur milieu solide

a) Préparation des extraits

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne, nous avons préparés à partir des différents extraits les concentrations suivantes : 200mg/ml, 100mg/ml, 50mg/ml.

b) Préparation de l'inoculum bactérien

L'inoculum a été préparé à partir de colonies jeunes de 24 heures. Ces dernières ont été émulsionnées dans 5 ml d'eau physiologique. Ensuite, la densité optique a été ajustée à 0,5 MC Farland à l'aide d'un densitomètre Cette densité correspond à une concentration de $10^6 - 10^8$ UFC/ml (**Wade et al., 2001**).

c) Choix de la technique

On a utilisé la méthode d'aromatogramme qui est semblable à un antibiogramme standard (**Hayes et Markovic, 2002**). Cette méthode a permis la sélection des extraits les plus actifs pour la détermination des paramètres antibactériens (CMI, CMB).

Elle consiste à déposer des disques de papier Wattman (6 mm de diamètre) imprégnés de 15 μ l de chaque extrait à la surface d'une gélose Muller Hinton préalablement inoculée avec une suspension de la bactérie à étudier. Les boîtes sont fermées et incubées à température ambiante pendant 20 min, ensuite dans une étuve à 37°C /24 H. Les zones d'inhibition ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse (**Kumar et al., 2009**).

- Lecture

Elle est effectuée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (DZI), selon **Remdane (2009)** :

- ✓ Diamètre <5mm : absence d'activité ;
- ✓ Diamètre entre 5 et 10 mm : activité faible ;
- ✓ Diamètre entre 10 et 16 mm : activité moyenne ;
- ✓ Diamètre \geq 16 mm : activité très forte.

NB :

- ✓ Une boîte dite «témoin» ne contenant que le milieu de culture, le germe à étudier et les disques imbibés par de l'eau distillée et du DMSO est préparée en même temps que l'expérimentation et dans les mêmes conditions afin de vérifier l'effet du DMSO sur les souches bactériennes étudiées.
- ✓ Les tests antibactériens ont été réalisés avec la GMH additionnée de sang pour les bactéries exigeantes puis incubées dans une jarre à CO₂ à 37°C.
- ✓ L'expérience a été réalisée en triplicata.

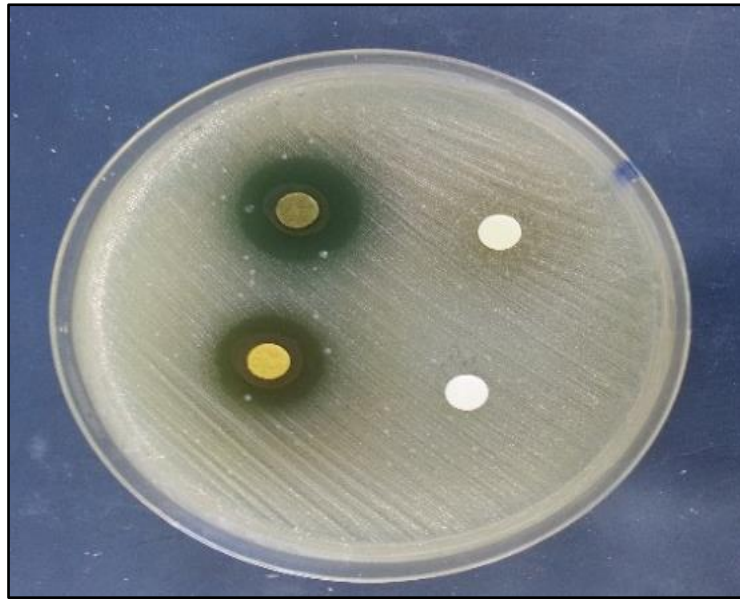


Figure 10. Méthode de diffusion sur milieu gélosé
(Originale, 2017)

1.2.3.5- Détermination des paramètres antibactériens (CMI, CMB)

La détermination des paramètres antibactériens a été réalisée par la dilution en milieu liquide (Kouadio *et al.*, 2015).

a) Préparation de l'inoculum pour les tests en milieu liquide

Deux colonies bactériennes de 24 heures ont été prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur et émulsionnées dans un tube à essai contenant 10 ml de bouillon Muller-Hinton stérile. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 3 heures. Après cette incubation, une suspension de 0,3 ml de cette pré-culture a été prélevée et diluée dans 10 ml de bouillon Muller-Hinton stérile puis homogénéisé.

b) Préparation de la gamme de concentration

La gamme de concentration a été obtenue par la méthode de la double dilution. Pour ce faire, une solution mère de concentration de 100 mg/ml des extraits retenus (méthanolique, n-hexane, chloroformique) a été préparée. Une série de dilutions de raison 1/2, a été effectuée à partir de cette solution dans des tubes à hémolyse afin d'obtenir des gammes de concentrations allant de 100 à 0,75 mg/ml. Sept concentrations ont été retenues pour chaque extrait.

c) Inoculation

Une série de 6 concentrations a été préparé à partir des différents extraits : 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12.5mg/ml, 6.25mg/ml, 3.125mg/ml, 1.56mg/ml. 1 ml de chaque concentration a été introduit dans un tube contenant 1ml de l'inoculum bactérien. Deux tubes ne contenant pas d'extrait de plante ont été préparés à fin de servir comme témoin de contrôle de croissance des germes et de la stérilité du milieu. Les tubes ont été incubés pendant 24 heures à 37 °C.

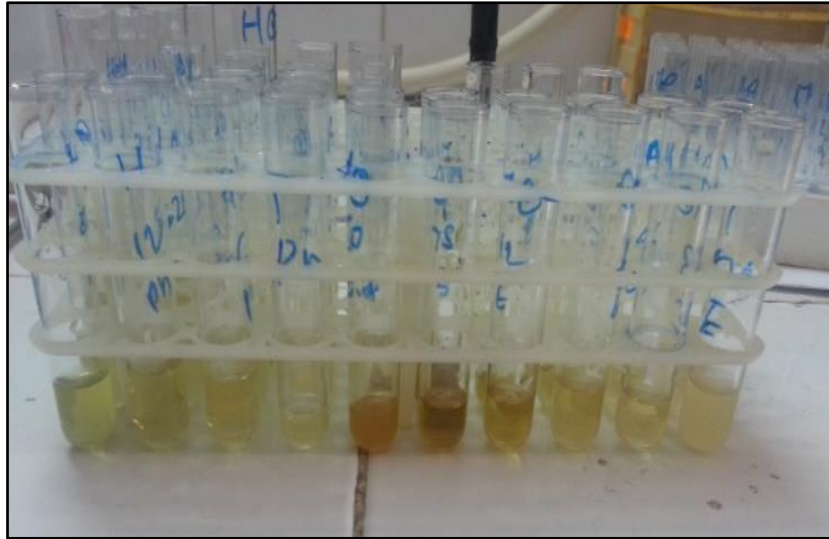


Figure 11. Préparation de la gamme de concentration (Original, 2017)

1.2.3.5.1- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Après incubation, une observation à l'œil nu a été effectuée et la plus faible concentration pour laquelle aucune croissance bactérienne n'a été observée à l'œil nu correspond à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

1.2.3.5.2- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) permet d'obtenir, après 24 heures d'incubation à 37 °C, 0,01% de bactéries viables.

Sa détermination a commencé par la numération. Celle-ci a consisté à diluer l'inoculum de départ de 10^{-1} à 10^{-4} et à ensemencer ces différentes dilutions à l'aide d'une anse calibrée de 2 μ l en stries de 5 cm de long, sur une GMH puis incubé pendant 24 heures. Ces boîtes de Pétri ont été nommées A.

Après la lecture des CMI, le contenu des tubes dans lesquels il n'y a pas eu de croissance visible a servi à ensemencer la GMH sur des stries de 5 cm. Cette série de boîtes de Pétri est nommée B. La CMB a été déterminée en comparant la croissance bactérienne des boîtes A et B. le premier tube expérimental dont le nombre de germes présents sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondra à la CMB (Annexe I).

1.2.3.5.3- Calcul de rapport CMB/CMI

Le rapport CMB/CMI a permis de préciser la modalité d'action de la substance (Fauchere, 2002).

Selon Kamanzi (2002), l'extrait est bactéricide quand sa CMB est égale à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4. Il est dit bactériostatique quand sa CMB est supérieure à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est plus élevé que 4.

I.2.4- Analyse statistique

Les résultats de l'activité antibactérienne *in vitro* sont exprimés en moyenne \pm écart type. La comparaison des moyennes et variances s'est effectuée à l'aide du logiciel XLSTAT 2017 par le test ANOVA à un seul facteur suivi du test Turkey (HSD) et le test Dunnett bilatéral.

La valeur du P pour laquelle les résultats sont significatifs est de $P < 0.05$.

Résultats et Interprétations

II. RESULTATS ET DISCUSSIONS

II.1- ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES SOUCHES

Cette étude a été réalisée durant une période de **02** mois et demi s'étalant de 16 Avril au 29 Juin 2017 au laboratoire centrale de l'EHS El Kettar de la wilaya d'Alger.

II.1.1- Répartition des prélèvements selon leur provenance

Au total, 1283 prélèvements ont été recueillis, dont 22.29% des prélèvements issus des patients non hospitalisés, et 77.71% issus de patients hospitalisés.

Le taux le plus élevé est représenté par des prélèvements urinaires 38.11%, suivi par les prélèvements de LCR avec 34.52%, comme l'illustre le tableau XIII présenté ci-dessous.

Tableau XIII : Répartition des prélèvements selon leur provenance

Type de prélèvements	Urines	Divers	LCR	Sang	Selles	Total
Positifs	98	69	23	14	2	206
Négatifs	391	96	420	76	94	1079
Total	489	165	443	90	96	1283
Pourcentage %	38.11	12.86	34.53	7.01	7.49	100

II.1.2- Isolement

Parmi les 1283 prélèvements, seulement 206 ont été positifs, dont 11 suspectaient une infection polymicrobienne, et 189 suspectaient une infection monomicrobienne (**Figure 12**).

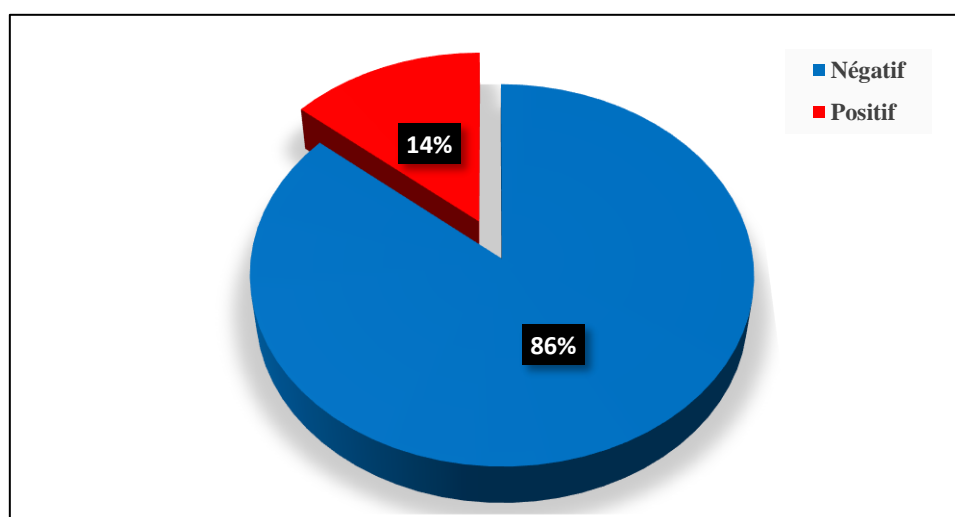


Figure 12. Taux de prélèvements positifs

A noter, que sur les 11 prélèvements polymicrobiens, 10 sont obtenus à partir de pus, et seulement (**1**) qui est issu à partir de crachat.

L'ensemble des prélèvements positifs obtenus durant notre étude a été réparti ainsi :

a) Selon le sexe des patients

Sur les **209** prélèvements positifs, 55.84% ont été prélevés des patients du sexe féminin, et 44.15% ont été prélevés des patients du sexe masculin (**Figure 13**). Le sex-ratio femme/home = $129/102 = 1.26$.

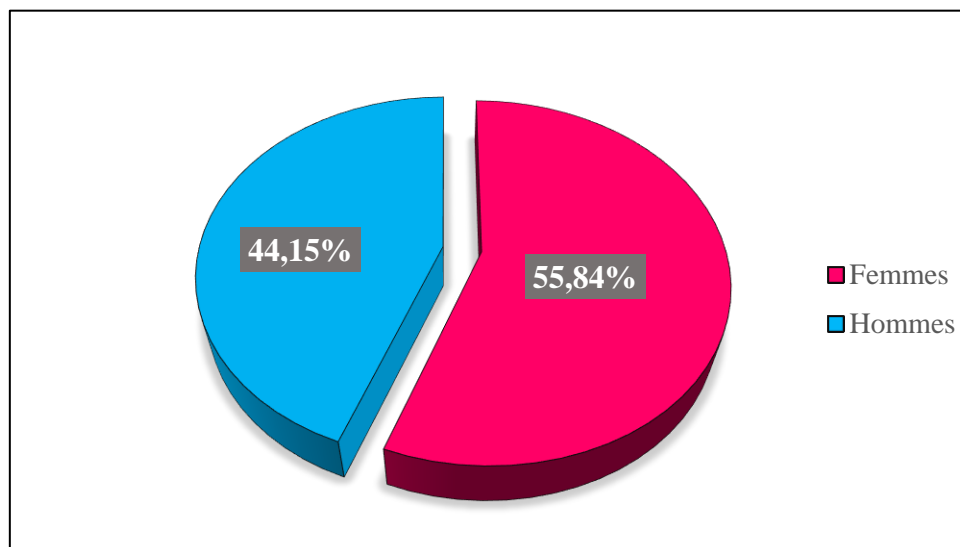


Figure 23. Répartition des patients à prélèvements positifs selon le sexe

b) Selon l'âge des patients

La positivité des prélèvements a été observé beaucoup plus, chez des patients appartenant à des catégories d'âges situées entre 18-35 ans, 35-60, et supérieur de 60 ans avec des taux de 34.63%, 23.37% et 20.77% respectivement (**Figure 14**).

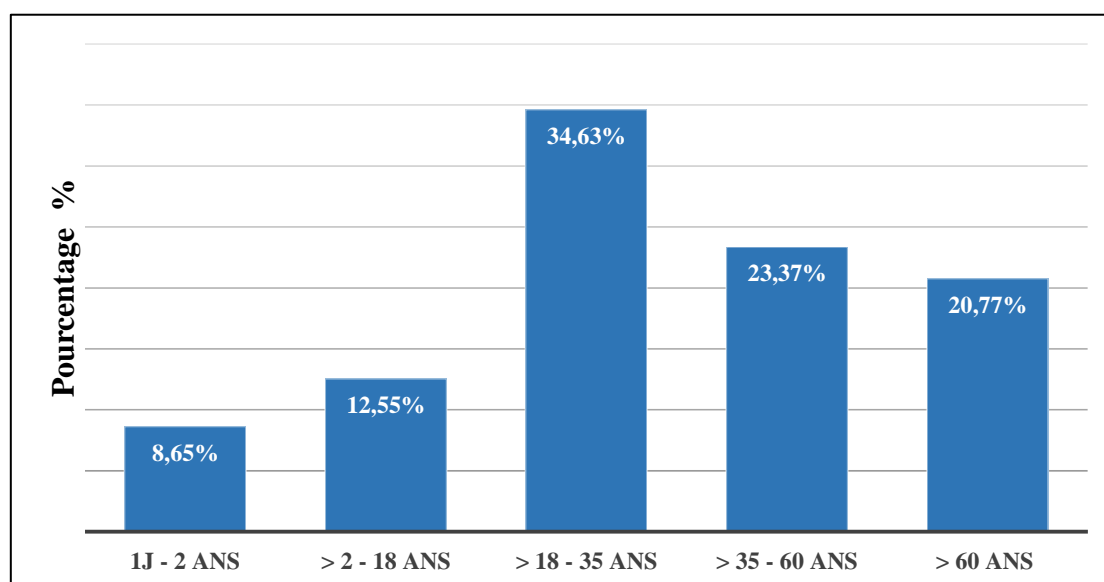


Figure 14: Répartition des patients à prélèvements positifs selon les tranches d'âges

c) Selon l'origine de prélèvement

La figure 15 montre que 42.42% des prélèvements positifs ont été issus principalement des urines, et 22.51% de pus, 9.95% du LCR, et 6.06% du sang.

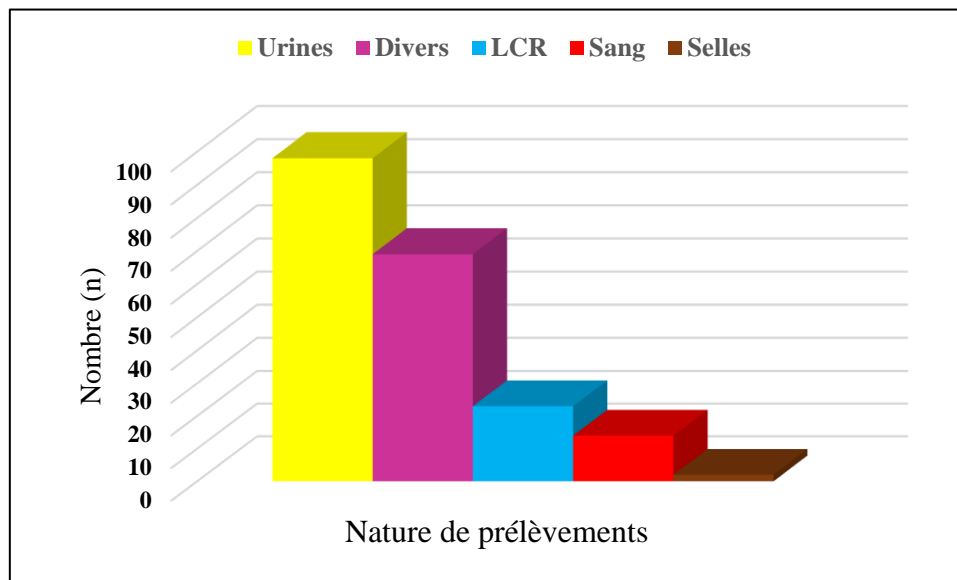


Figure 15. Répartition des prélèvements positifs selon leur nature

II.1.3- Identification

Après la réalisation des différentes étapes d'identification bactériologique (Examen macroscopique et microscopique, coloration de Gram, test d'orientation, identification par galerie Api 20), **231** souches ont été identifiées (**Tableau XIV**).

Tableau XIV : Nombre des espèces identifiées

Famille	Espèces	Nombre (n)	Gram	Taux (%)
I	<i>Esherichia coli</i>	76	-	60.17%
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	30		
	<i>Enterobacter cloacea</i>	08		
	<i>Salmonella spp.</i>	05		
	<i>Proteus mirabilis</i>	09		
	<i>Serratia liquifaciens</i>	07		
	<i>Citrobacter frendii</i>	03		
	<i>Providencia rettgeri</i>	01		
II	<i>Acinetobacter baumanii</i>	12	5.19%	

III	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	+	10.82%
IV	<i>Neisseria meningitidis</i>	01		0.43%
V	<i>Staphylococcus aureus</i>	28		15.58%
	Staphylocoques à coagulase négatif	08		
VI	<i>Streptococcus pyogenes</i>	04		6.05%
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	07		
	<i>Enterococcus spp.</i>	03		
VII	<i>Listeria monocytogenes</i>	01	0.43%	

I : Enterobacteriaceae, **II** : Moraxellaceae, **III** : Pseudomonaceae, **IV** : Neisseriaceae, **V** : Staphylococcaceae, **VI** : Streptococcaceae, **VII** : Listeriaceae.

D'après ces résultats, on remarque que la majorité des bactéries isolées appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* avec un taux de 60.17%, suivi par 15.58% pour les *Staphylococcaceae*, 10.82% pour la souche *P.aeruginosa*, 6.06% pour les *Streptococcaceae*, et 5.19% pour la souche *A.baumannii*, et 0.43% respectivement à partir des deux souches *N.meningitidis* et *L.monocytogenes*.

A signaler que, tous les staphylocoques à coagulase négative (SCN) identifiés dans notre étude ont été considéré comme des contaminants, à l'exception de la souche *S.saprophyticus* isolée à partir des prélèvements d'origine urinaires seulement.

Au total, **79.66%** des germes isolés sont représentés par les bacilles à Gram négatifs (BGN), alors que les cocci à Gram positifs ont représenté un taux de 20.34% (**Figure 16**).

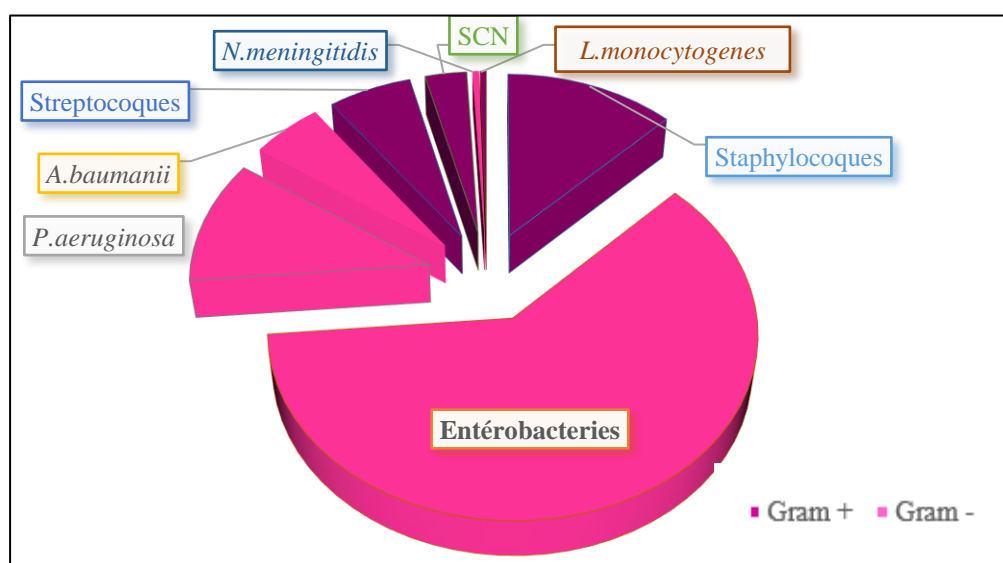


Figure 16. Répartition des souches par groupe bactérien

II.1.3.1- Répartition des espèces selon la nature de prélèvement

La distribution des espèces isolées en fonction des sites de prélèvement (**Figure 17**) révèle que *S.aureus* occupe la première place pour les prélèvements issus principalement du pus avec un taux de 96.29%, et la prédominance d'*E.coli* dans les prélèvements urinaires pour une fréquence de 81.57%, suivi par *K. pneumoniae* par un taux de 66.66%.

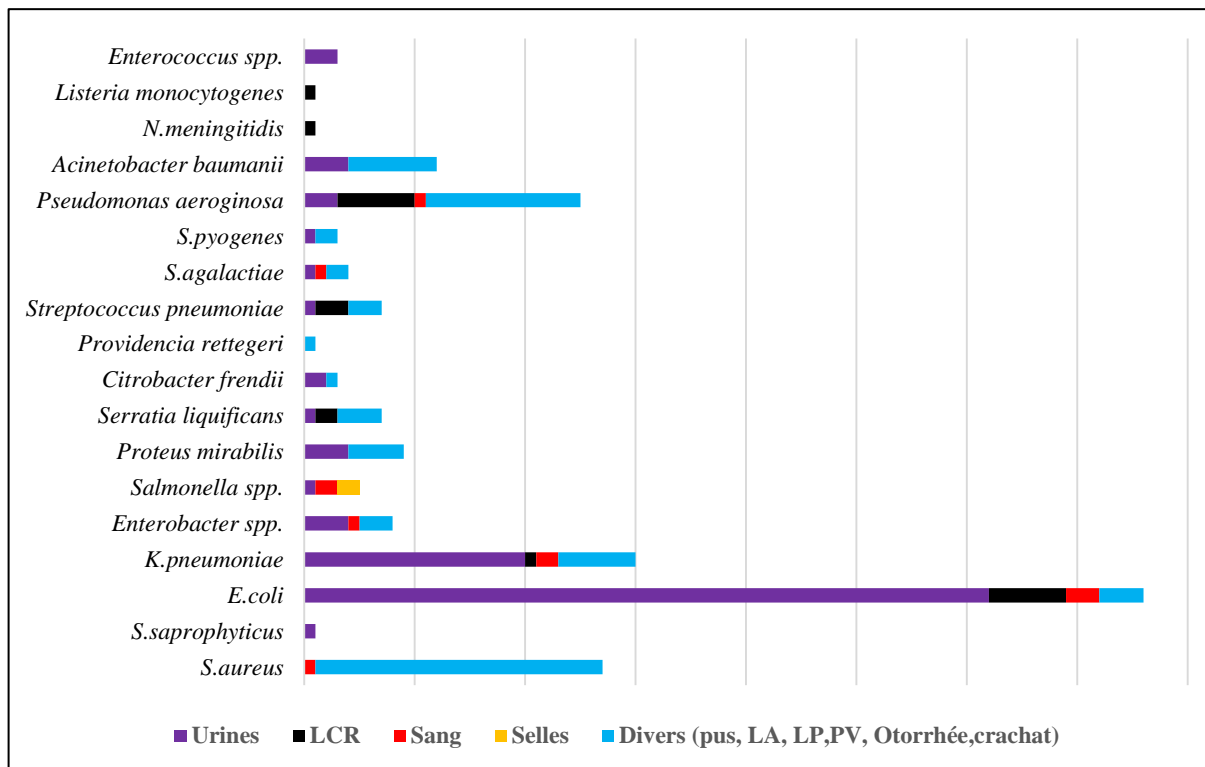


Figure 17. Répartition des espèces selon la nature de prélèvement

II.2- ETUDE DE LA RESISTANCE DES SOUCHES AUX ANTIBIOTIQUES

Toutes les souches ont été testées vis-à-vis différentes molécules d'antibiotiques appartenant à divers familles, recommandées par CLSI 2014.

II.2.1. Etude de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques

Les souches d'entérobactéries (**Figure 18**) montrent une résistance à de nombreuses β -lactamines. Les taux de résistance étaient les suivants : Amoxicilline/Acide clavulanique (93.52%), Ampicilline (93.52%), Céfotaxime (93.52%), Aztréoname (84.89%), Céfoxitine (17.98%), Céfazoline (70.50%).

On note une résistance totale des entérobactéries à l'Ampicilline, contrairement à l'Imipinème où la totalité des souches demeurent être sensibles.

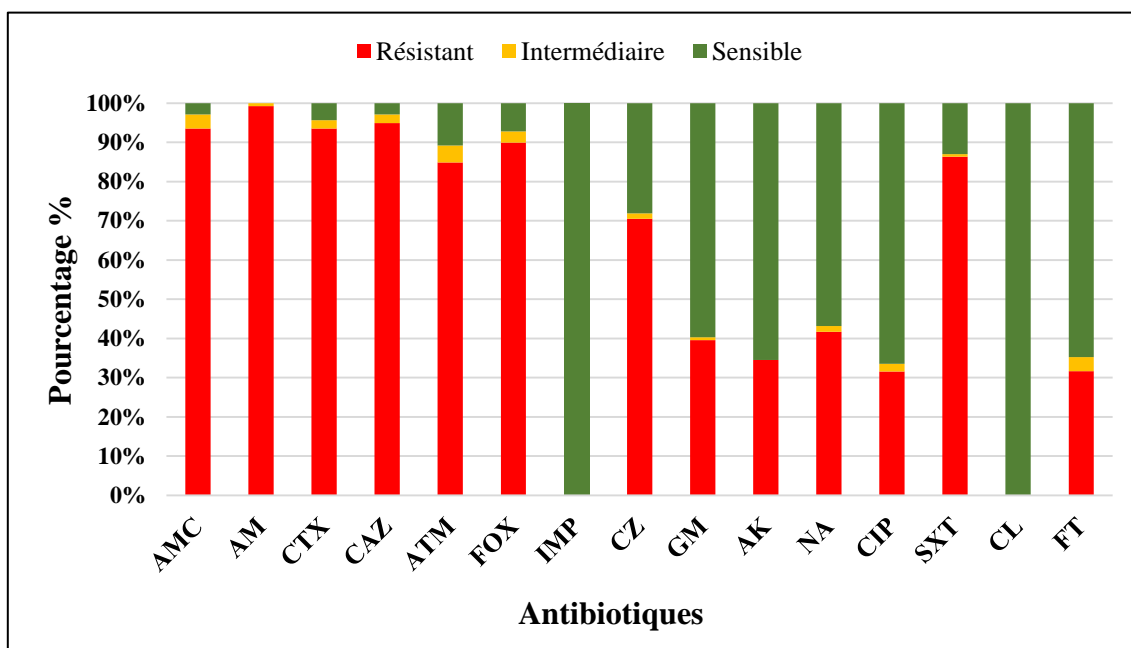


Figure 18. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques

Pour les aminosides, le taux le plus important on l'observe pour la Gentamicine (59.71%) suivi de l'Amikacine (34.53%). En ce qui concerne, les fluoroquinolones (quinolone de 1^{ère} génération), les taux de résistance sont de 41.72% pour l'acide Nalidixique, et de 33.81% pour la Ciprofloxacine (quinolone de 2^{ème} génération).

On remarque une activité importante des souches vis-à-vis de la Triméthoprime/Sulfaméthoxazole avec un taux de 87.05%. Alors qu'une résistance faible est observée vis-à-vis la furane (31.65%) et une sensibilité totale via la colistine.

II.2.2- Etude de la résistance des BGN non fermentaires aux antibiotiques

- Les souches d'*Acinetobacter baumannii* (Figure 19) étudiées présentent une résistance importante vis-à-vis de la famille des β -lactamines, avec des taux de résistance de 91.66% à la Ticarcilline et la Ticarcilline/Acide clavulanique, 83.33% à la Pipéracilline, 66.66% à la Céfotaxime, alors que l'Imipénème est le moins touché avec un taux de résistance de 50%.

Concernant les autres familles d'antibiotiques : les aminosides montrent un taux de résistance très important pour la Netilmicine (91.6%), pour l'Amikacine (83.33%) et pour la Gentamicine (75%) ; Cependant, la moitié des souches sont résistant à la Colistine (50%), et (83.33%) des souches sont résistant à la Ciprofloxacine appartenant à la famille des fluoroquinolones.

Cependant, la Tobramycine demeure le seul antibiotique potentiellement efficace avec 100% de souches sensibles.

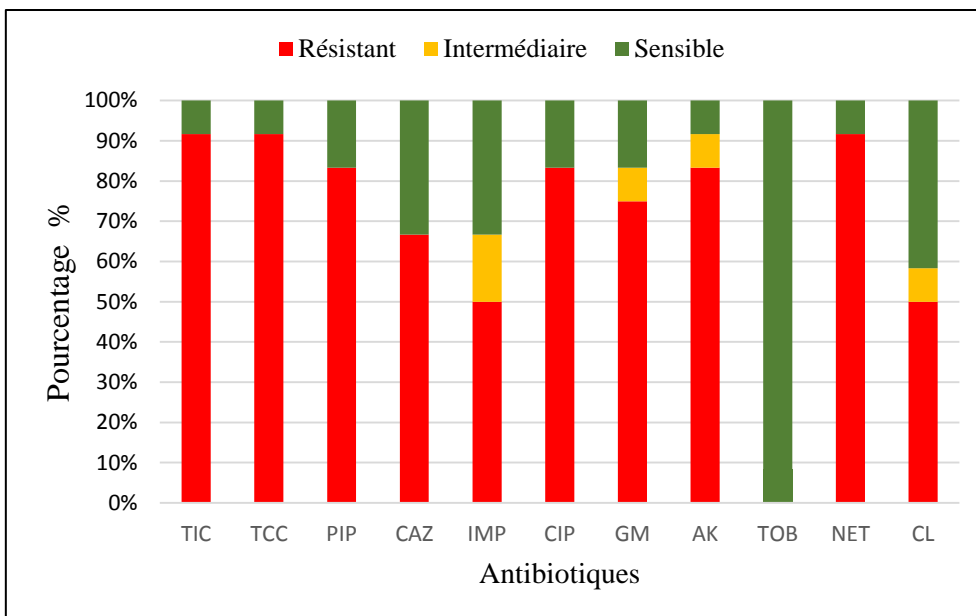


Figure 19. Résistance des *A. baumannii* aux antibiotiques

- Les souches de *P. aeruginosa* montrent des différents niveaux de résistance vis-à-vis les antibiotiques, mis à part la colistine, à laquelle tous nos isolats sont sensibles (**Figure 20**).

Les niveaux de résistance sont nettement plus élevés vis-à-vis la famille des β -lactamines avec un taux de résistance de 88% à l’Imipénème, 72% à la Ticarcilline/Acide clavulanique, et 56% à la Pipiracilline. Un même taux de résistance moyennement élevés de 52% à la Ticarcilline et la Céfazidime, contrairement à l’Aztréoname avec lequel les souches sont très faiblement résistantes (24%).

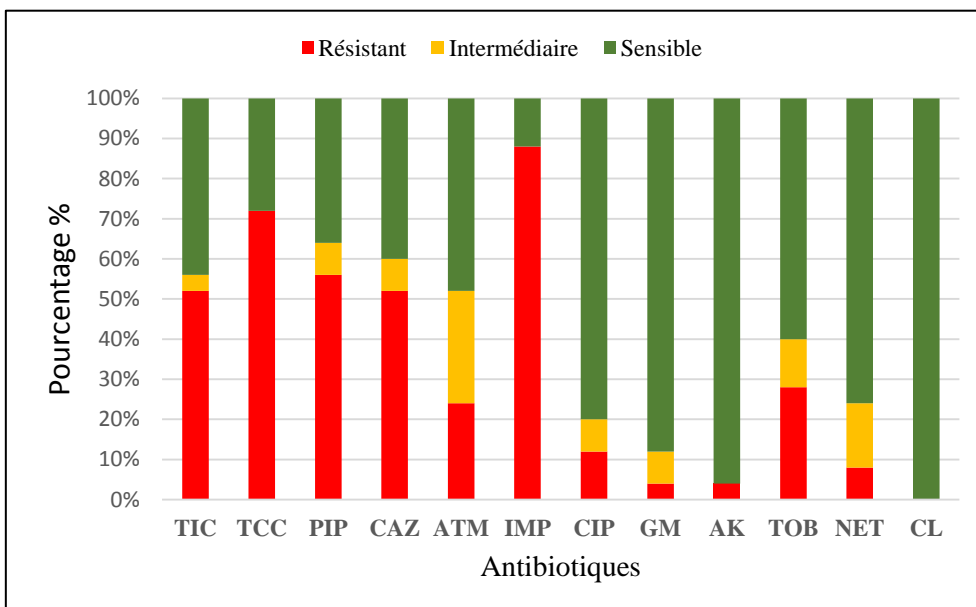


Figure 20. Résistance des *P. aeruginosa* aux antibiotiques

Les taux de résistance aux aminosides sont : (4%) pour la Gentamycine et l'Amikacine, (28%) pour la Tobramycine. Concernant les fluoroquinolones, un faible taux de résistance est retenu pour la Ciprofloxacine (12%).

Le dépistage systématique des souches productrices de BLSE, a été révélé par des images de synergie caractéristiques (bouchon de champagne), entre l'acide clavulanique (AMC) et les céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) (**Figure 21**), et est confirmé plus tard par le test de Hodge modifié (TDD) (**Figure 22**).

Ceci nous a permis de détecter un pourcentage de 14.38% (20/139) de souches productrices de BLSE parmi les entérobactéries, représentées principalement par *E.coli* (60%) suivi par *K. pneumoniae* (20%), et un pourcentage de 10.82% (4/37) de souches productrices de BLSE parmi les BGN non fermentaires, présentant une fréquence égale à 50% *A.baumannii*.

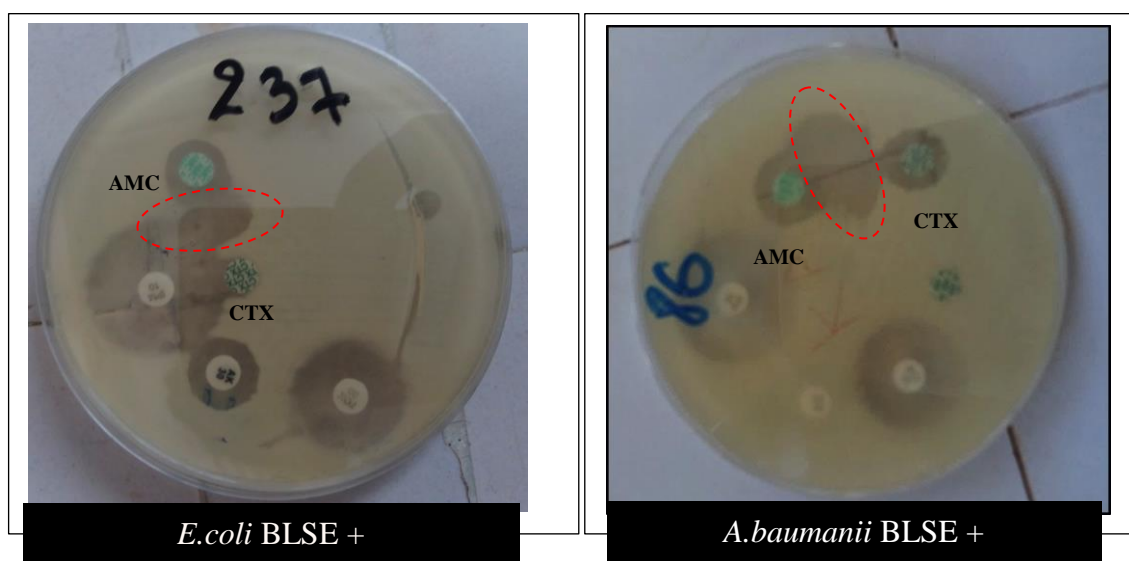


Figure 21. Synergie caractéristique sous forme d'un bouchon de champagne (**Original, 2017**)

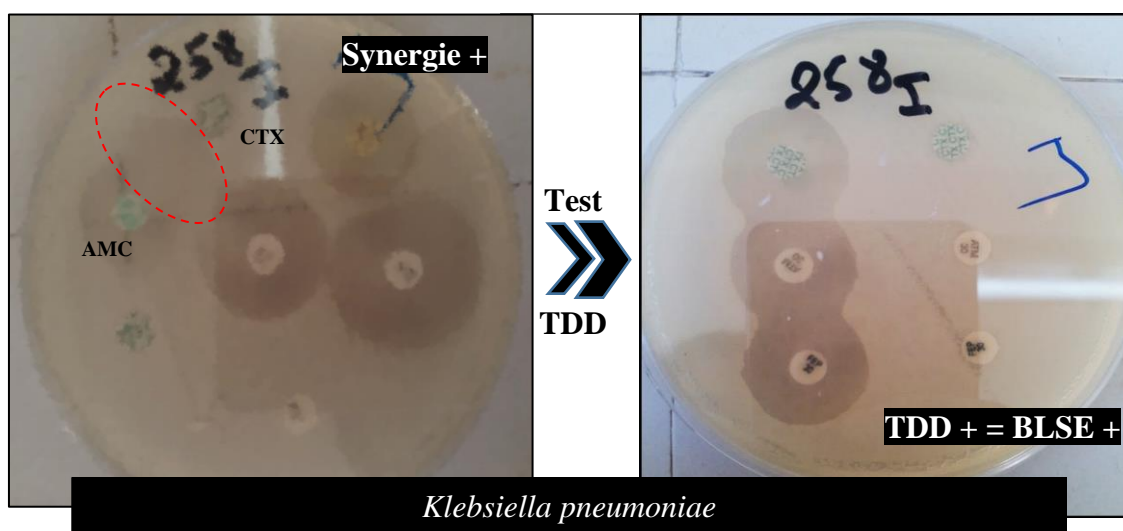


Figure 22. Test de confirmation double disque sur la souche *K. pneumoniae* (**Original, 2017**)

II.2.3-Etude de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques

Les pourcentages de résistances aux 15 antibiotiques testés vis-à-vis les staphylocoques sont rapportés dans la figure 23.

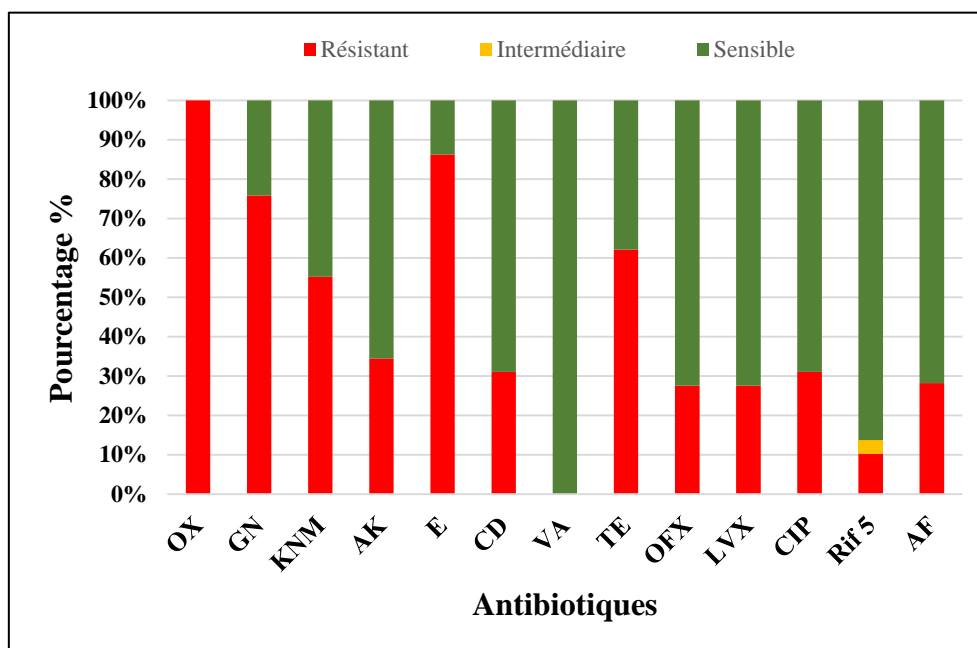


Figure 23. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques

D'après l'histogramme qu'on a obtenu, on remarque que la résistance des *S.aureus* est totale à l'Oxacilline (100%), élevée aux aminosides avec un taux de résistance de 75.86% à la Gentamicine, 55.17% à la Kanamycine et 34.48% à l'Amikacine.

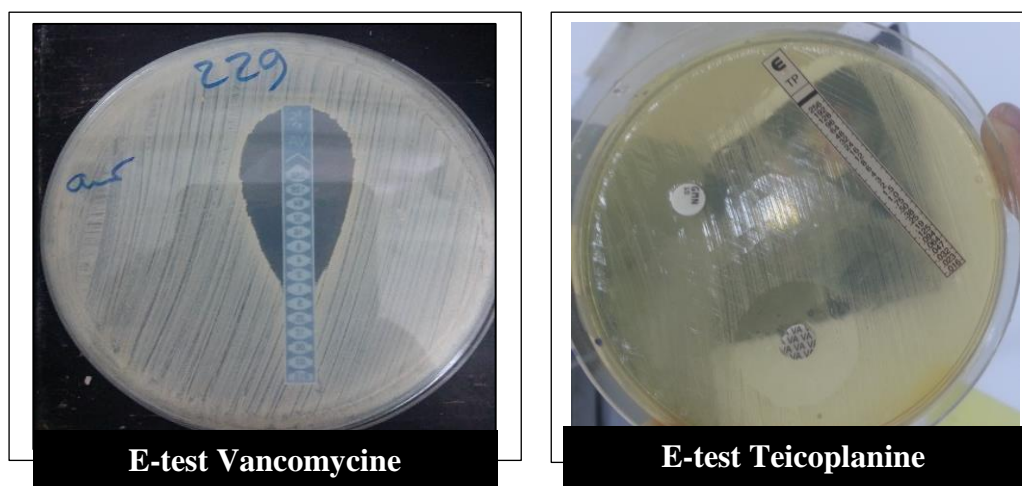
Une résistance remarquable aux macrolides représentée principalement par l'Erythromycine avec 86.20%. Tandis que le groupe des quinolones et la Rifampicine, montrent un faible taux de résistance avec 27.58% et 13.79% respectivement.

Le screening test à l'Oxacilline effectué, a marqué la présence de 6.89% (2/29) de SARM parmi la totalité des *S.aureus* isolés.

Les valeurs de CMI pour la Vancomycine et la Teicoplanine déterminées par la méthode d'E-test (**Figure 24**) sont présentées dans le tableau XV présenté ci-dessous. Parmi les 25 souches de *S.aureus* étudiées, aucune n'a montré une résistance aux glycopeptides (CMI \leq 2mg/l).

Tableau XV : les CMI pour la VA et la TP pour les souches de *S.aureus* étudiées

CMI ($\mu\text{g/ml}$)	Vancomycine (VA)	Teicoplanine (TP)
$\text{CMI} < 0,5$	3	2
$0,5 \leq \text{CMI} < 1$	2	9
$1 \leq \text{CMI} < 2$	20	14
$\text{CMI} \geq 2$	0	0

**Figure 24.** La méthode de CMI par E-test de la souche *S. aureus* (Original, 2017)

II.2.4. Etude de la résistance des streptocoques aux antibiotiques

La figure 25 représente les résultats de la résistance aux antibiotiques obtenus de l'antibiogramme. Les souches de streptocoques montrent un très faible taux de résistance via les différentes familles d'antibiotiques testés.

On note un taux de 37% pour l'Oxacilline appartenant à la famille des β -lactamines, contrairement à la Penicilline G qui demeure reste active sur la plupart des souches, avec une fréquence de résistance de 7.14%.

Cependant, les aminosides restent moyennement actifs sur les streptocoques avec des taux variables entre 13% et 37%. Une résistance à des taux extrêmes est remarquable dans la famille des glycopeptides, allant d'une sensibilité totale des souches vis-à-vis la Vancomycine, à 8% de résistance qu'on l'observe contre la Clindamycine.

Les taux de résistances retenus pour la famille des fluoroquinolones, dévoilent que les antibiotiques appartenant à cette famille conservent leur activité envers la plupart des streptocoques avec des fréquences de 92% pour l'Ofloxacin et 85% pour la Ciprofloxacine.

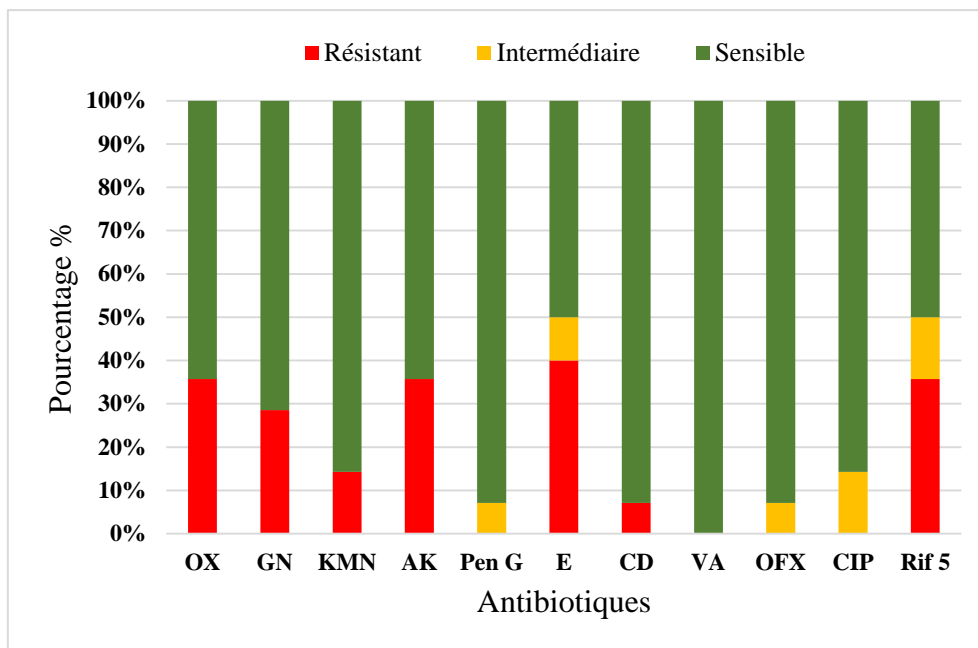


Figure 25. Résistance des streptocoques aux antibiotiques

II.2.5. Etude de la résistance des entérocoques aux antibiotiques

Il ressort de la figure 26 que le profil de résistance globale des entérocoques isolés montre une résistance totale aux macrolides (Erythromycine), et une résistance modérée aux β -lactamines, aux glycopeptides, aux sulfamides et aux cyclines à un taux de 66.66%.

Les antibiotiques les plus actifs ont été les aminosides de haut niveau avec 66.66 % de sensibilité observée contre la Kanamycine et l'Amikacine. Cependant, 100% des entérocoques demeurent être sensibles aux antibiotiques appartenant à la famille des fluoroquinolones.

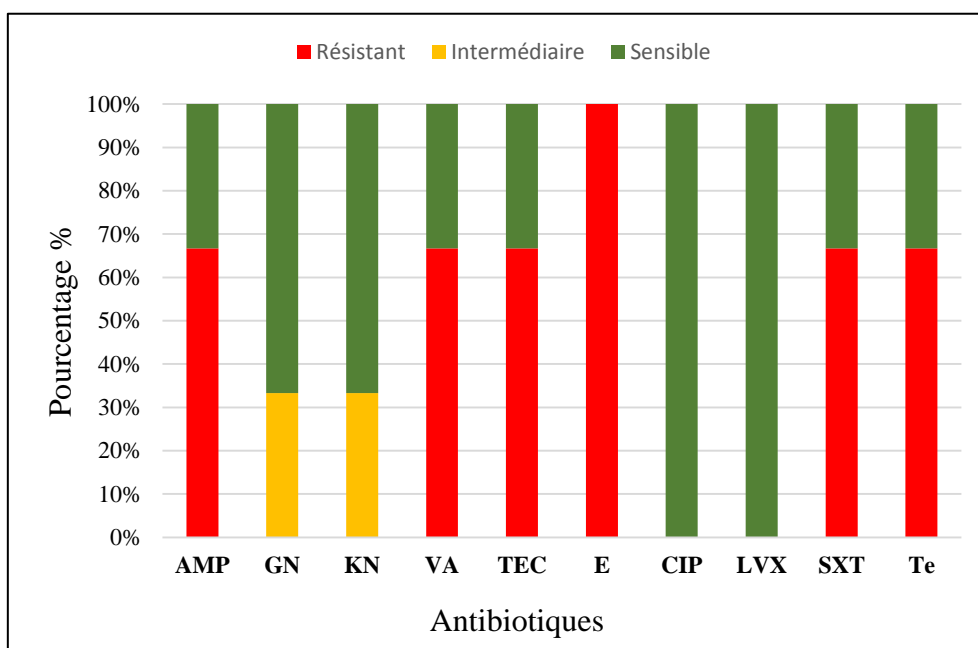


Figure 26. Résistance des entérocoques aux antibiotiques

II.3- ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS VEGETAUX *IN VITRO*

II.3.1- Extraction, rendement et qualité organoleptique

La méthode d'extraction est une opération importante qu'il faut mener avec soin. Les calculs des rendements d'extraction et les différents caractères organoleptiques des extraits méthanolique, chloroformiques, hexaniques, des feuilles et de fleurs sèches d'*Inula viscosa* sont illustrés dans le tableau XIII représenté ci-dessous.

Tableau XIII : Les principales caractéristiques des extraits issus d'*Inula viscosa*

	Couleur	Aspect	Odeur	Rendement %
EMF	Marron foncé	Poudre	Très forte et désagréable	14.869
EMf	Jaune-brun	visqueux	Forte	11.71
ECF	vert foncé	Pâteux	très forte et désagréable	10.74
ECf	jaune	Pâteux	moyennement forte	9.55
EHF	vert foncé	visqueux	faible	8.92
EHf	jaune clair	visqueux	faible	8.21

II.3.2- Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur totale en polyphénols est déterminée en fonction de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Annexe II**). Les résultats sont exprimés en mg, équivalent acide gallique/g de matière végétale sèche (mg EAG/g de matière sèche).

Tableau XIV: Taux de polyphénols totaux des différents extraits méthanoliques et chloroformiques feuilles et fleurs d'*Inula viscosa*

Extraits	Polyphénols totaux (mg EAG/g)
EMf	380 ± 0,01
EMF	500 ± 0,21
ECf	130 ± 0,00
ECF	140 ± 0,04

Nos résultats montrent que les extraits polaires (méthanolique, chloroformique) des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa* sont riches en polyphénols dont les valeurs varient entre 130 et 500 mg EAG/g de poudre végétale, dont la première place est occupée par l'EMF.

II.3.3- Dosage des flavonoïdes

L'évaluation de la teneur en flavonoïde de l'extrait méthanolique et chloroformique des feuilles et des fleurs de la plante *Inula viscosa* est exprimée en mg équivalent de rutine par g de l'extrait (mg ER/g de l'extrait) (Annexe II). Les résultats sont représentés dans le tableau XV.

Tableau XV : Teneur de l'extrait méthanolique et chloroformique des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa*

Extraits	Teneur (mg ER / g)
EMF	123,36
EMf	97,60
ECF	38,1
ECf	29,26

D'après le tableau, on remarque que la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles (123,36mg ER/g d'extrait) est légèrement plus élevée que celle de l'extrait méthanolique des fleurs (97,60mg ER/g d'extrait). Pareilles, pour l'extrait chloroformique la teneur en flavonoïdes des feuilles (38,1mg ER/g d'extrait) est légèrement élevée que celle de l'extrait chloroformique des fleurs (29,261mg ER/g d'extrait).

On remarque que pour les deux solvants utilisés que les feuilles enregistrent les teneurs en flavonoïdes les plus élevées.

II.3.4- Etude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux *in vitro*

II.3.4.1- Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis les différents extraits

Après avoir préparé la gamme de concentrations des différents extraits de feuilles et fleurs d'*I. viscosa*, une étude de la sensibilité des souches vis-à-vis les extraits a été réalisée, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

Selon nos résultats, nos extraits montrent une activité très diversifiée et variable, ils réagissent sur les souches testées avec une intensité différentes selon la souche microbienne, la concentration et le type de l'extrait testé (nature de solvant d'extraction et la partie aérienne utilisée).

- **Effet antibactérien des différents extraits feuilles d'*Inula viscosa***

Nos résultats montrent que l'ensemble des extraits ont une faible activité contre l'ensemble des bactéries à Gram négatif (**Figure 27**) avec une moyenne de diamètres des zones d'inhibition (DZI) variable entre $(7.66 \pm 0.44\text{mm})$ et $(12 \pm 0\text{mm})$ pour la dose maximale 200mg/ml, à l'exception des deux souches : *A. baumannii* pour laquelle l'extrait méthanolique est plus actif avec une moyenne de DZI de $(28.66 \pm 0.88\text{mm})$, et *Providencia rettgeri* pour laquelle l'extrait chloroformique est plus actif avec une moyenne de DZI de $(15.33 \pm 0.4\text{mm})$ par rapport à l'extrait méthanolique $(14.66 \pm 0.4\text{mm})$ ($P < 0.0001$).

Par ailleurs, l'ensemble des extraits sont actifs sur la totalité des souches à Gram positif (**Figure 28**) avec une activité très remarquable pour l'extrait méthanolique à ça plus faible dose contre deux bactéries *S.aureus* pathogène et *B.subtilis*, avec une moyenne des DZI situées entre $(15.33 \pm 0.5\text{mm})$ et $(16.33 \pm 0.5\text{mm})$ respectivement. De plus, l'extrait chloroformique à faible dose a aussi une très bonne activité contre *Bacillus subtilis* avec une moyenne de DZI $(15.66 \pm 0.5\text{mm})$, pratiquement semblable à celle de l'extrait méthanolique $(16.33 \pm 0.5\text{mm})$ ($P > 0.05$).

- **Effet antibactérien des différents extraits fleurs d'*Inula viscosa***

Les résultats illustrent que l'ensemble des extraits de fleurs d'*Inula viscosa* présentent une faible activité vis-à-vis de la totalité des bactéries à Gram négatif (**Figure 29**). Cette activité présentent des DZI qui se situent entre $(0 \pm 0\text{mm})$ et $(12 \pm 0.6\text{mm})$ pour l'extrait méthanolique, $(7.66 \pm 0.4\text{mm})$ et $(12 \pm 0.6\text{mm})$ pour l'extrait chloroformique, et entre $(0 \pm 0\text{mm})$ et $(11.66 \pm 0.6\text{mm})$ pour l'extrait hexanique, à l'exception d'*A.baumannii* BLSE. Cette dernière est très sensible aux différentes doses de l'extrait méthanolique surtout pour la dose 200mg/ml, contre laquelle on observe un DZI de $(26.66 \pm 0.8\text{mm})$. En revanche, à dose 200mg/ml, les deux extrait chloroformique et méthanolique démontrent une activité très proche de l'un par rapport à l'autre, donnant des DZI de $(14 \pm 1\text{mm})$ et (13 ± 0.6) respectivement ($P > 0.05$).

On remarque aussi, que *K.pneumoniae* BLSE semble résistante à l'action de la totalité d'extraits à leurs différentes doses. Aussi bien pour *P.aeruginosa* qui présente une faible sensibilité vis-à-vis de l'extrait méthanolique à la dose 200mg/ml $(11.33 \pm 0.4\text{mm})$, et une résistance totale à l'extrait hexanique à ces différentes doses $(0 \pm 0\text{mm})$.

En contrepartie, les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique possède une action antibactérienne importante contre la totalité des bactéries à Gram positif testées (**Figure 30**). Parmi ces bactéries, on note que *S.aureus* montre la sensibilité la plus élevée à faible dose $(14.33 \pm 0.5\text{mm})$, suivi par *Bacillus subtilis* (**Figure 31**) avec un DZI égale à $(13.33 \pm 0.5\text{mm})$.

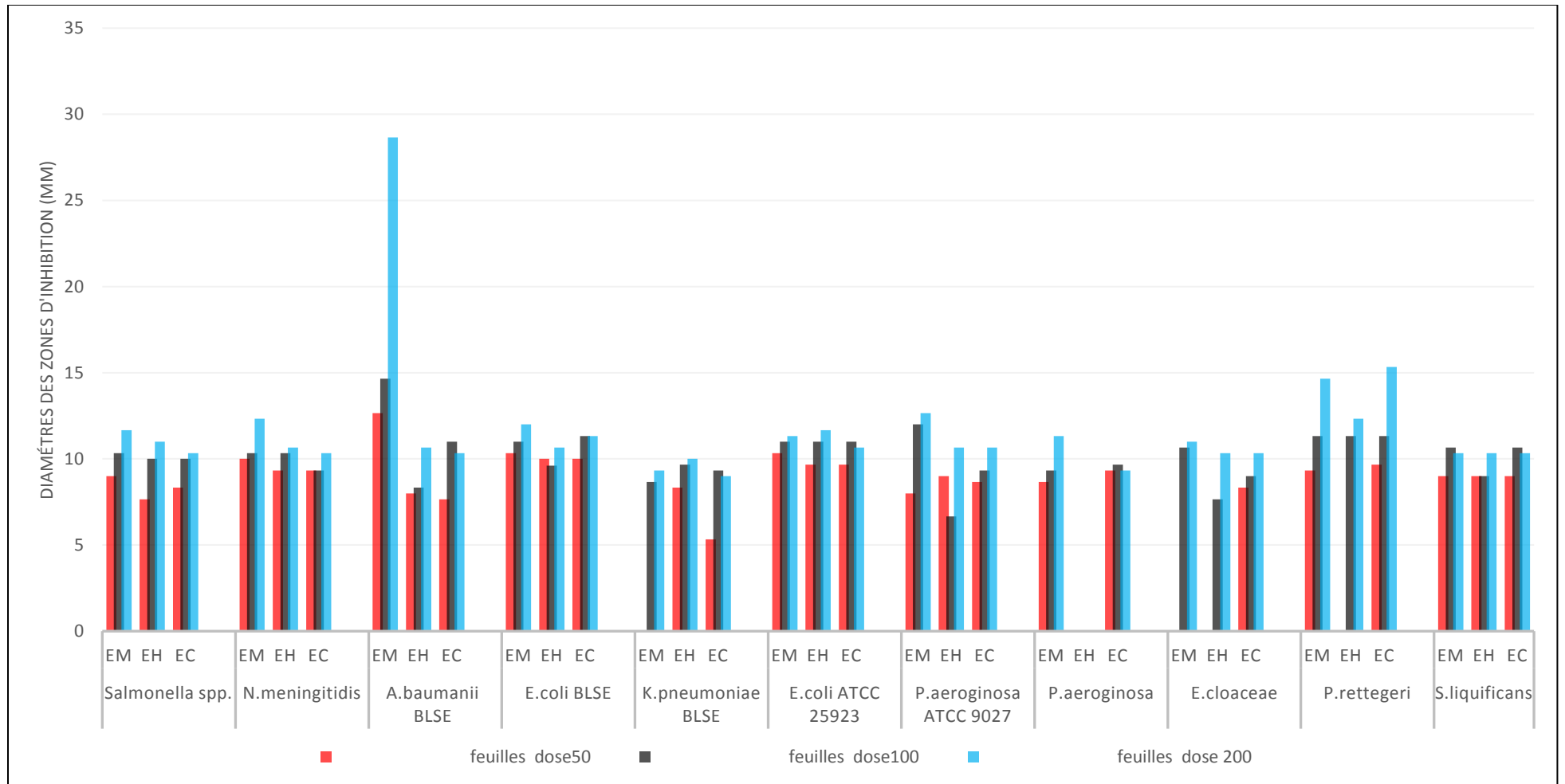


Figure 27 : L'activité antibactérienne des différents extraits feuilles d'*I.viscosa* à leurs différentes doses sur l'ensemble des bactéries à Gram négatif étudiées

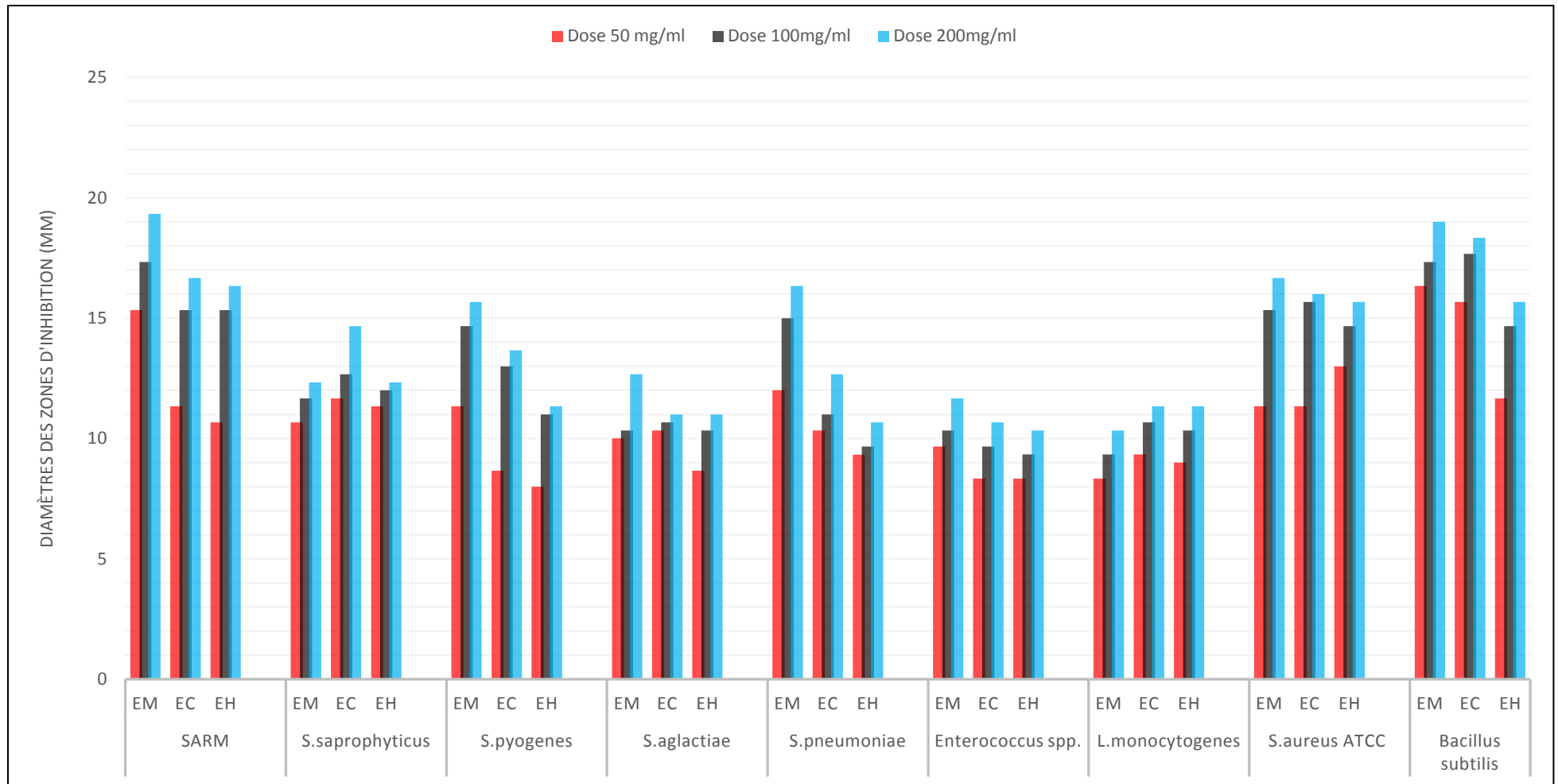


Figure 28 : L'activité antibactérienne des différents extraits feuilles d'*I.viscosa* à leurs différentes doses sur l'ensemble des bactéries à Gram positif étudiées

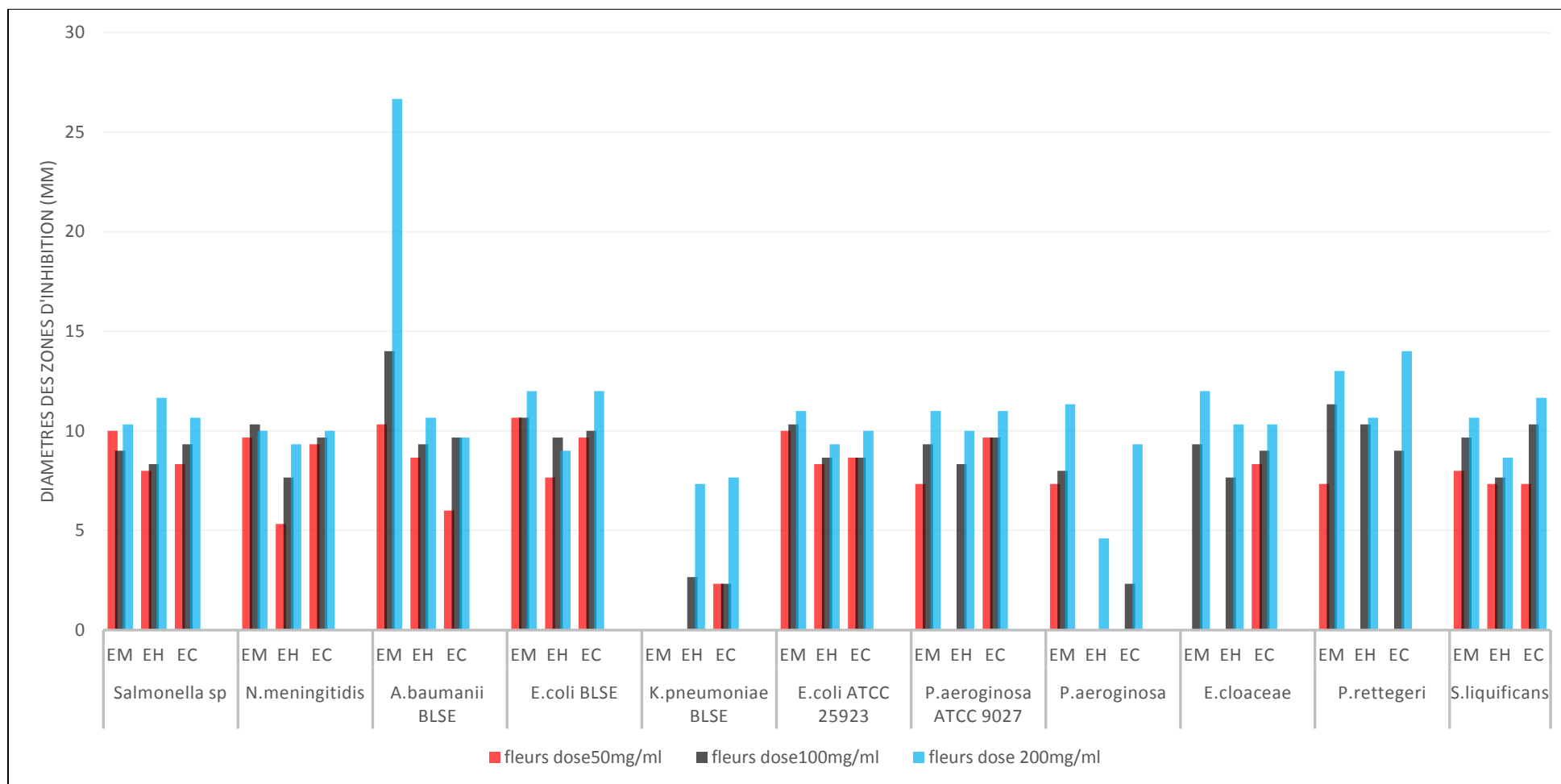


Figure 29 : L'activité antibactérienne des différents extraits fleurs d'*I.viscosa* à leurs différentes doses sur l'ensemble des bactéries à Gram négatif étudiées

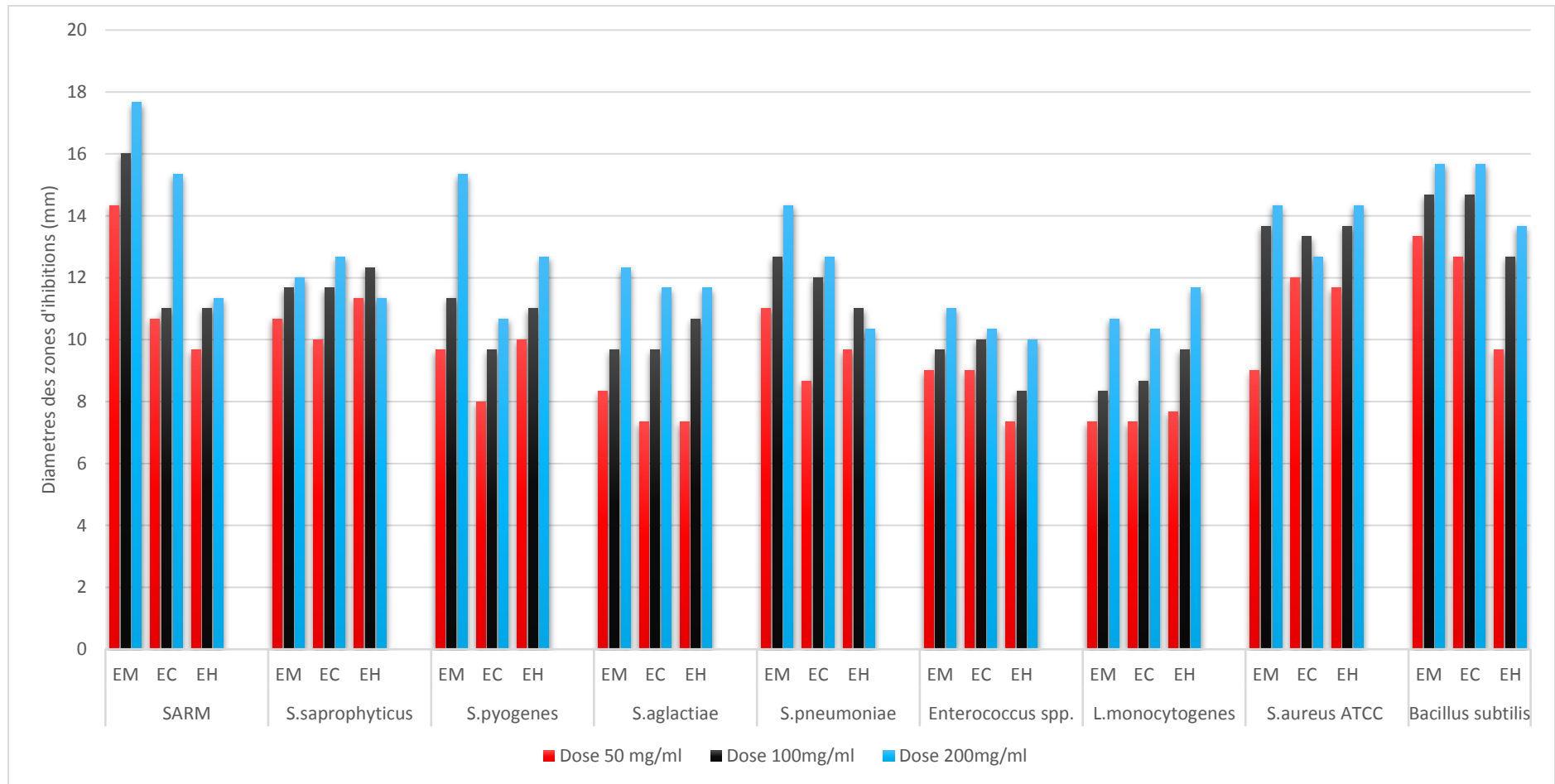


Figure 30 : L'activité antibactérienne des différents extraits fleurs d'*I.viscosa* à leurs différentes doses sur l'ensemble des bactéries à Gram positif étudiées

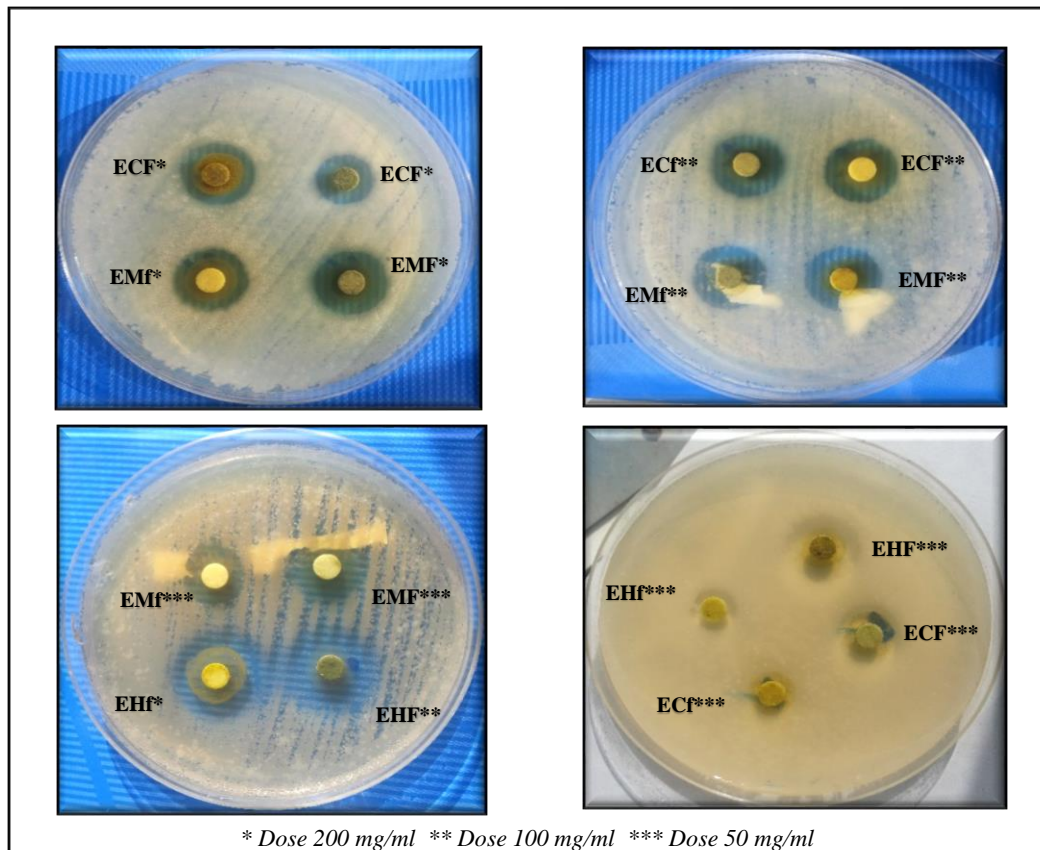


Figure 31. Effet des extraits d'*Inula viscosa* feuilles et fleurs sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633

On remarque que les deux extraits chloroformique et méthanolique présentent un effet inhibiteur important à dose 200mg/ml contre *S.saprophyticus* avec des DZI très proches entre eux : ($12.67 \pm 0.5\text{mm}$) pour l'EC et ($12 \pm 1\text{mm}$) pour l'EM ($P > 0.05$).

Il est important de signaler que :

- L'extrait hexanique est celui qu'a montré la plus faible activité antibactérienne ;
- L'extrait aqueux n'a présenté aucun effet inhibiteur envers la croissance de toutes les souches bactériennes testées. Et cela, pour ces différentes concentrations 20%, 10%, et 5%.
- Les témoins testés (eau, DMSO) n'ont aucun effet inhibiteur sur les bactéries étudiées. Toute action inhibitrice observée est donc due aux substances actives contenues dans les extraits.

- **Comparaison de l'activité antibactérienne des extraits aux antibiotiques testés**

L'analyse statistique démontre que pour l'ensemble des extraits végétaux d'*I.viscosa*, les différences observées des DZI sont significativement comparable contre l'ATB de référence seulement pour l'extrait méthanolique, et cela chez certaines souches, qui sont :

- *A.baumannii* BLSE contre laquelle la dose 200mg/ml de l'EM/F donne un DZI de 28 mm par rapport au DZI de l'IMP (25 mm) ($P < 0.001$). Aussi bien pour l'EM/f pour lequel le DZI égale à $(26 \pm 0.6\text{mm})$ ($P < 0.001$) ;
- *S.aureus* résistante à la méticilline, pour laquelle le DZI de l'EM/F à dose 50mg/ml ($17.33 \pm 1.15\text{mm}$) est presque égale au DZI de la NA (20mm) ($P < 0.001$). De plus, l'EM/f à dose 100mg/ml exprime un DZI de (17.66 ± 1.52) ($P < 0.001$).

II.3.2.2- Détermination des paramètres antibactériens (CMI, CMB)

La détermination des paramètres antibactériens est réalisée par la méthode de dilution en milieu liquide, sur 7 souches bactériennes, pour lesquelles nos différents extraits étaient très actifs ($\text{DZI} \geq 14\text{mm}$), dont 5 bactéries sont pathogènes et 2 souches de références. Les résultats observés sont représentés dans le tableau XVI.

Selon le tableau XVI, on remarque que les plus petites valeurs d'inhibition sont obtenue avec l'extrait méthanolique feuilles. Ce dernier possède une très bonne activité où SARM, *A.baumannii*, *S.pyogenes*, *B.subtilis* semble être les plus sensible avec une CMI de 12mg/ml pour SARM (**Figure 32**) et 6.25mg/ml pour *A.baumannii*, *S.pyogenes*, *B.subtilis*, suivis par *S.pneumoniae* et *S.aureus* 43300 ATCC avec une CMI de 25mg/ml. Les plus fortes valeurs de CMI sont obtenues avec les deux extraits chloroformique et hexanique (CMI = 25mg/ml, 12mg/ml) contre la totalité des souches testées.

Les résultats de l'évaluation des effets bactéricides des extraits végétaux sont repris dans le tableau 15. Dans ce tableau sont incluses d'une part les concentrations minimales bactéricides (mg/ml) de l'ensemble des extraits et d'autre part les valeurs du rapport entre la CMB et la CMI. Sur l'ensemble des souches, une concentration de 50 mg/ml des différents extraits est capable de tuer plus de 90% de la population bactérienne initiale. Les CMB varient entre 50mg/ml et 12mg/ml contre les bactéries à Gram positifs, 50 mg/ml à 25mg/ml contre *A.baumannii*. Les valeurs de la CMB étaient plus proches de celles des CMI pour tous les extraits. Ainsi, le rapport CMB/CMI pour toutes les souches étudiées varie entre 2 et 4.

Tableau XV: Concentrations minimales inhibitrices CMI, Concentrations bactéricides CMB, et le rapport CMB/CMI des extraits d'*Inula viscosa*

	CMI mg/ml						CMB mg/ml						Rapport CMB/CMI						Interprétation
	EMF	ECF	EHF	EMf	ECf	EHf	EMF	ECF	EHF	EMf	ECf	EHf	EMF	ECF	EHF	EMf	ECf	EHf	
<i>S.aureus</i> ATCC 43300	25	-	25	12.5	25	-	50	-	50	50	50	-	2	-	2	4	2	-	Bactéricide
SARM	12.5	25	25	25	25	-	50	50	50	50	50	-	4	2	2	2	2	-	Bactéricide
<i>A.baumannii</i> BLSE+	6.25	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	25	50	50	25	50	50	4	4	4	2	4	4	Bactéricide
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	6.25	12.5	12.5	12.5	12.5	-	25	50	50	25	50	-	4	4	4	2	4	-	Bactéricide
<i>S.pyogenes</i>	6.25	6.25	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	25	25	25	25	2	2	2	2	2	2	Bactéricide
<i>S.pneumonie</i>	25	-	-	-	-	-	50	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	Bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

▪ : Non déterminée.

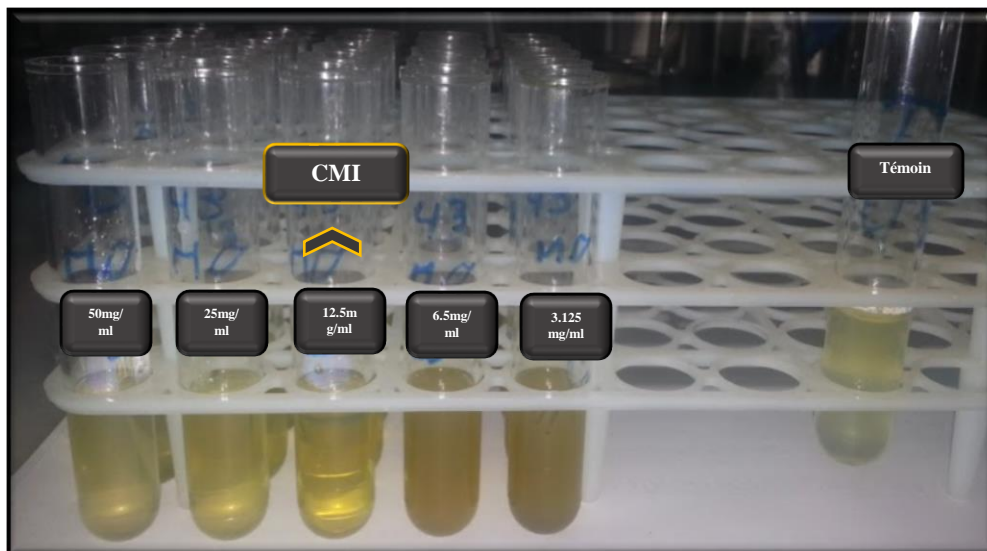


Figure 33. Concentration minimale inhibitrice de l'extrait méthanolique de SARM

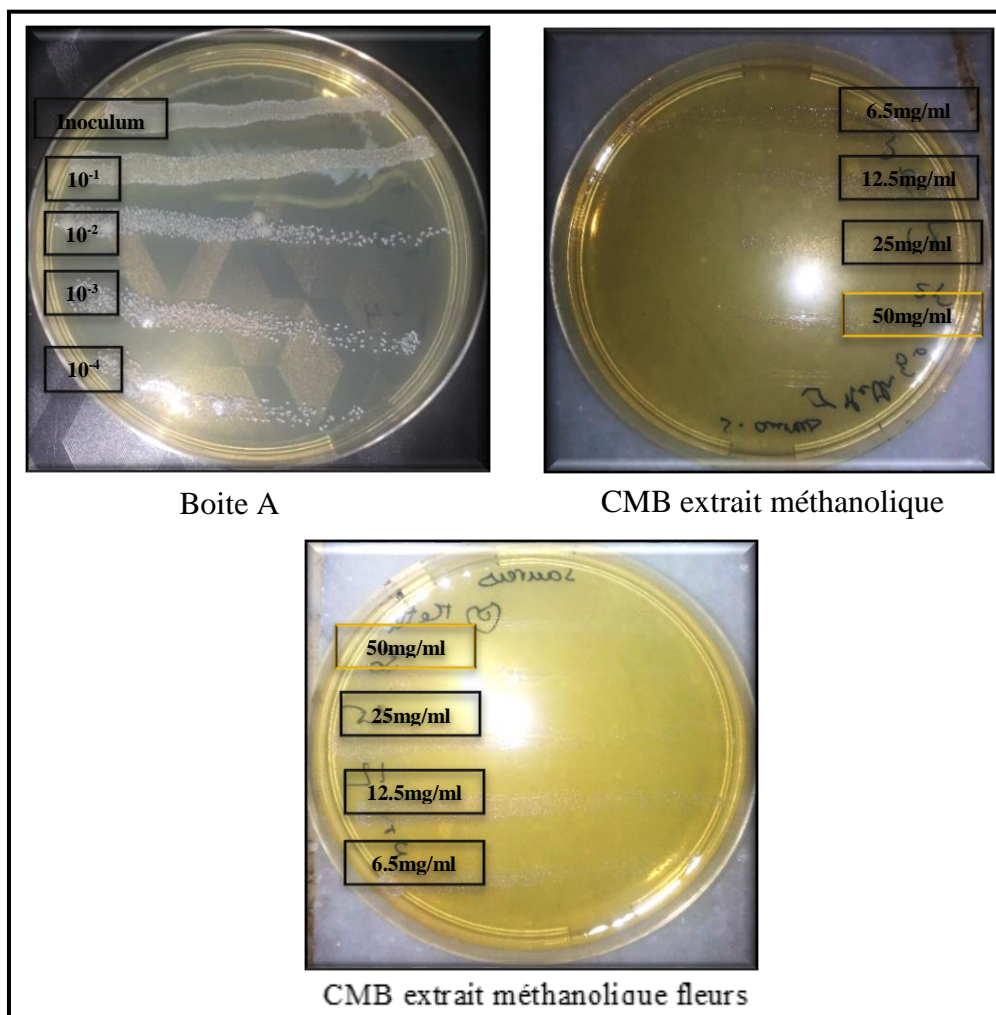


Figure 34. CMB de l'extrait méthanolique de SARM

Discussion

DISCUSSION

Durant notre étude, 1283 prélèvements ont été recueillis dont 77.71% sont issus des patients hospitalisés et 22.29% issus du milieu externe. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par **Mkaouar et al., (2008)** en Tunisie, 65% des isolats provenaient de malades hospitalisés.

Parmi la totalité des prélèvements reçus au niveau du laboratoire, seulement 231 prélèvements étaient positifs, la majorité d'entre eux provenaient de patients de sexe féminin (55.84%) en comparaison avec le sexe masculin (44.15%), soit un ratio de 1.26 en faveur des femmes. Les tranches d'âges se situaient entre 18 et 35 ans et 35 à 60 ans et demeurent ainsi les plus touchées par les infections d'origine bactérienne.

En parallèle, le profil bactériologique des isolats est marqué par une importante prédominance de BGN (79.66%) par rapport aux cocci à Gram positif (20.34%). Dans notre étude, les entérobactéries ont prédominé avec une fréquence de 78.53% par rapport à 26.42% des bacilles à Gram négatif (BGN) non fermentaire. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Elouennass (2008)** au Maroc, **Zogheib et Dupont (2005)** en France et **Gangoué Piéboji et al., (2004)** au Cameroun.

Dans le groupe des entérobactéries isolées, *Escherichia coli* reste l'espèce la plus fréquente (54.67%), suivie par *Klebsiella pneumoniae* (21.58%), comme cela a été rapporté par plusieurs études **Messai et al., (2007)** et **Nadmia et al., (2010)**. Ces deux bactéries présentaient le taux le plus important de bactéries isolées à partir des prélèvements du tractus urinaires (42.42%), principalement recueillis au sein du laboratoire provenant majoritairement des femmes. Ces résultats rapportent que, les femmes dont l'âge est supérieur à 18 ans sont les plus touchées par les infections urinaires, ce qui est également rapporté par les études réalisées par **Levy et al., (1977)** ; **Pezzlot et al., (1982)** et par **Fouad (2004)**. Cette importance peut être liée d'une part aux différents facteurs anatomiques et physiologiques favorisant spécifiquement l'installation des germes pathogènes (Urètre court, grossesse,...) et d'autre part par le fait que ces dernières soient plus recensées grâce au nombre d'ECBU demandés aux femmes enceintes (**Leminor et Veron, 1989**), ainsi que par la fréquence des rapports sexuels qui favorisent l'ouverture du méat urétral favorisant ainsi l'accès des germes à la vessie.

En contrepartie, une prédominance majeure des *S. aureus* de 50% par rapport à la totalité des Gram positif a été observée. Ce germe, est beaucoup plus incriminé dans les prélèvements purulents (96.29%). Ce résultat est légèrement supérieur à celui observé par **Hamze et al., (2001)** en Lebanon (60%). En effet, les atteintes cutanées (plaies traumatiques ou chirurgicales, brûlures, ulcères) sont des facteurs favorisant ces infections, de même que les facteurs d'atteinte générale comme le diabète, les thérapeutiques immunodépressives ou les traitements par les corticoïdes (**Musher et al., 1994**).

La résistance des BGN aux antibiotiques pose un grand problème au niveau des hôpitaux du nord algérien (**Drissi et al., 2008**; **Drissi et al., 2010**; **Baba Ahmed-Kazi et al., 2013**; **Berrazeg et al., 2013**; **Mesli et al., 2013**).

L'étude de la sensibilité des entérobactéries vis-à-vis des antibiotiques a révélé un niveau de résistance élevée vis-à-vis de la majorité des antibiotiques testés. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par différentes études (**Berrazeg et al., 2013**, **Mesli et al., 2013**, **Belmonte et al., 2010**). En effet selon **Mesli et al. (2013)**, cela pourrait être expliqué comme étant la conséquence de la pression de sélection due à la prescription massive et l'usage souvent abusif des antibiotiques à large spectre aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire, ainsi qu'à la transmission croisée des résistances acquises à déterminisme plasmidique.

Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) ne cesse de se renforcer notamment par l'acquisition de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) (**Belmonte et al., 2010**). La production d'une telle enzyme permet à la bactérie de résister à toutes les β -lactamines excepté les Céphamycines et l'Imipénème (**Ben Redjeb et al., 2000**). Ceci a été observé dans nos résultats, avec une sensibilité totale de l'ensemble des souches vis-à-vis de l'Imipénème.

En effet, les souches d'entérobactéries étudiées ont présenté un taux de résistance élevé aux céphalosporines de 3^{ème} génération avec des taux de 94.96% et 93.52% respectivement pour la Céfotaxime et Céfotaxime. Ainsi 14.38% des souches étudiées sont productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Cette valeur est nettement inférieure à celle retrouvée par **Ayad (2010)** à Tlemcen (67%), par **Messai et al., (2007)** en Tunisie (30.8 %), mais supérieure à celle rapportée en France (5.2%), en Allemagne (2.6%) et en Hollande (2%) (**Ho et al., 2000**; **Bouchillon et al., 2004**).

D'après nos résultats, l'espèce *E. coli* a dominé le profil des entérobactéries BLSE (60 %), ce qui correspond aux résultats obtenus par **Leotard et Negrin (2010)** et **Holstein et al., (2010)**.

Le genre *Acinetobacter* est largement répandu dans la nature, ce sont des organismes endogènes dans les différents types de sol et dans l'eau (**Peleg et al, 2008**). Au cours des dernières années, *A. baumannii* a été associé à des infections associées aux soins, en particulier chez les patients débilisés. Les principaux sites d'infection sont les voies respiratoires, des voies urinaires, sang, les blessures et les brûlures (**Lin et al, 2011**).

A partir des différents types de prélèvements, toutes les souches d'*A. baumannii* isolées étaient résistantes à la plupart des antibiotiques testés, principalement à la famille des β -lactamines. Dans la présente étude, la résistance des *A. baumannii* aux C3G est importante. 66.66% de nos souches étaient résistantes au Céfotaxime ainsi qu'aux inhibiteurs des β -lactamines, 91,66% vis-à-vis de la Ticarcilline+Acide clavulanique et 83.33% à la Piperacilline.

Nos résultats sont proches que ceux rapportés par plusieurs études (**Chahmout, 2011** ; **Liapid, 2012**). Les taux rapportés dans d'autres études sont variables, allant de 22% en Iran (**Hassanzadeh et al., 2009**) à 100% en Algérie (**Ramoul, 2013**). Cette résistance est liée à une hyperproduction d'une céphalosporinase (**Hassanzadeh et al., 2009**).

Ces dernières années, les fluoroquinolones ont perdu beaucoup de leur efficacité contre *Acinetobacter baumannii* (**Ben Haj Khalifa et al., 2010**). Dans notre étude, le taux de résistance était 83,33% pour la ciprofloxacine, ce qui est légèrement inférieur à celui retrouvé dans les études de **Rabhi (2012)**, 92,6% Tlemcen et **Radu-Popescu (2010)**, 93,1% en Roumanie, et supérieur à celui obtenu par **Ben HajKhalifa (2010)**, 63,3% en Tunisie.

Néanmoins, la Tobramycine reste l'agent le plus actif contre cette bactérie. Ces résultats concordent bien avec ceux obtenus dans une étude britannique (**Libera et Costa, 2003**).

Les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans cette étude, ont montré différents niveaux de résistance vis-à-vis des antibiotiques, présentant des taux de résistance très inférieurs à ceux observés pour *Acinetobacter baumannii*. Le taux de résistance à l'Imipénème est de **88%**, il est nettement supérieur à celui des deux études **Ben Haj Khalifa (2010)** et **Benjemaa et al., (2004)** en Tunisie, dont les taux de résistance étaient de **18.7%** et **23%** respectivement. Mais, il est proche à celui trouvé par **Rabhi (2012) (76,5%)** Tlemcen.

Cependant, au cours de cette étude, de même que celle de **Mesli (2010)**, **Sefraoui (2011)** et **Rabhi (2012)** aucune souche de bacille à Gram négatif non fermentaire résistante à la Colistine n'a été isolée.

Les staphylocoques sont les agents les plus impliqués dans les suppurations. Leur vie commensale, associée à la virulence de certaines espèces, explique que ces bactéries représentent une cause majeure d'infections (**Minoret Veron, 1984**). Toutes les souches de staphylocoques étudiées sont résistantes à la Pénicilline (100%). Le taux de résistance obtenu dans notre étude est plus élevé que celui rapporté par le réseau algérien de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans son 13^{ème} rapport avec 58% de *S.aureus* dans les services de réanimation en Algérie, et en Allemagne (21%) (**Jones et al., 2004**). Cependant, il est très proche à celui révélé en Brésil (**95%**) (**Salomao et al., 2008**), en Tunisie (**Hammami, 2009**). Donc, cette résistance varie probablement d'un pays à un autre.

Selon la littérature, la résistance des staphylocoques à la Pénicilline est due à la production de pénicillinase (**Le Minor et Veron, 1984 ; Lyon et Skuray, 1987 ; Berche et al., 1988 ; Leclerq, 2002**). Ces auteurs ont montré que 70 à 90 % des souches de *S. aureus* résistent à la Pénicilline.

En effet, les *S. aureus* qui sont résistants aux pénicillines du groupe M, sont connus par leur habilité à résister à plusieurs autres groupes d'antibiotiques et tout particulièrement aux aminoglycosides, aux cyclines, à l'Acide Fusidique, aux fluoroquinolones (**Leclerq, 2002**). Ce qui explique les différents taux de résistance qu'on a obtenu pour ces différentes familles citées. En ce qui concerne les fluoroquinolones, nous avons constaté que les souches isolées montrent une bonne sensibilité vis-à-vis de ce groupe d'antibiotiques (**92 %** de souches sont sensibles).

L'Acide Fusidique a montré une activité moyenne sur les souches avec une résistance globale de l'ordre de 37.93%. Ce chiffre est très proche à celui observé par **Belabbes et al., (2001)** à Casablanca, qui en étudiant la sensibilité des souches hospitalières de *S. aureus* ont constaté que 23,3% des isolats sont résistants à l'Acide Fusidique. Les résultats sont similaires à ceux obtenus par **Hamze et al., (2003) 36%**.

A signaler que dans notre étude, parmi les 29 souches de *S. aureus* étudiées, aucune n'a montré une résistance aux glycopeptides (CMI \leq 2 mg/l).

Toutes les souches de streptocoques ont été sensibles à la PenG avec seulement 7.14% de souches intermédiaires. Une étude antérieure menée en 2004 à Dakar a révélé un résultat identique (**Houpkounou, 2003**). Il en est de même pour de nombreux pays comme la Tunisie (**Nait-Kaci, 1998**), l'Allemagne (**Sauermann et al., 2003**) et l'Espagne (**Ordenn, 1998**).

La globalité des souches que nous avons testées ont été sensibles à la Vancomycine avec une fréquence de 100%. Ces résultats sont semblables à ceux retrouvés par **Zachariadou et al., (2003)** en Grèce.

Les résultats pour la gamme d'antibiotique appliquée sur l'ensemble des espèces d'entérocoques, ont montré une résistance importante (66.66%) à l'Ampicilline, l'Erythromycine, la Tétracycline, la Vancomycine et la Teicoplanine. Les antibiotiques les plus actifs ont été les aminosides de haute concentration avec 66.66% de sensibilité, de même pour les quinolones. Ces résultats concordent avec ceux d'une étude récente effectuée au Cameroun sur la résistance aux antibiotiques des entérocoques responsables des infections urinaires au Centre Hospitalier et Universitaire et à l'Hôpital Central de Yaoundé (**Hortense et al., 2015**).

Les bactéries sont à l'origine de réels problèmes de santé publique à cause de leur implication dans de nombreuses maladies. Leur résistance aux antibiotiques est devenue l'un des problèmes les plus importants dans la lutte contre les maladies infectieuses dans le monde. De ce fait, la recherche de nouvelles molécules est devenue nécessaire et d'actualité. Ces dernières années les recherches sur les plantes ont eu un impact significatif dans la lutte contre les maladies infectieuses.

C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressées à évaluer les propriétés antibactériennes des extraits méthanoliques, aqueux chloroformiques et hexaniques des feuilles et fleurs de la plante médicinale *Inula viscosa*.

L'extraction par les solvants organiques (méthanol, chloroforme, hexane) a été faite après avoir séché la plante à l'ombre et l'avoir broyée en poudre. En effet, l'utilisation d'un matériel sec est recommandée du moment que les flavonoïdes (particulièrement les glycosides) peuvent être soumis à une dégradation enzymatique quand le matériel végétal est frais ou non séché (**Marston et Hostettmann, 2006**).

De plus, les fermentations microbiennes causées par l'humidité peuvent être la cause de cette dégradation (**Seidel, 2005**). Le séchage de la plante à l'obscurité prévient les transformations chimiques telles que les dégradations causées par les radiations ultraviolettes de la lumière solaire (**Jones et Kinghorn, 2005**).

L'utilisation de la poudre à la place de la plante entière a pour but d'améliorer l'extraction du fait de rendre l'échantillon plus homogène, d'augmenter la surface de contact avec le solvant et de faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage.

Les extractions des feuilles et fleurs d'*Inula viscosa* ont fourni des extraits ayant des rendements variables. Il ressort de l'analyse des résultats que les meilleurs rendements ont été obtenus pour les extraits méthanoliques avec un taux de 14.869% pour les feuilles et 11.71% pour les fleurs, suivis par les extraits chloroformiques feuilles et fleurs soit un taux de 10.74% et 9.55% respectivement, en dernier les extraits hexaniques avec un faible rendement pour les deux organes étudiés.

Le rendement en extrait méthanolique obtenu dans ce travail est proche de ceux enregistrés par **Gökbulut** et ses collaborateurs en **2013** (15%), par **Abuhamdah et al.** en 2013 (10%) et par **Chahmi et al** en **2015** (13,35 %). En revanche, **Laghrifi** et ses coauteurs (2013) ainsi que **Chebouti (2016)** ont trouvé un rendement beaucoup plus élevé avec des pourcentages respectifs de 44,95 % et de 37,41%.

La teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes d'*Inula viscosa* est déterminée en utilisant les méthodes de FolinCiocalteu, de trichlorure d'aluminium. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique feuilles / fleurs est plus riche en polyphénols, avec une moyenne de 500 et 380 mg EAG/g sec respectivement. Selon **Djeridane et al., (2006)**, cette richesse en polyphénol des parties aériennes est caractéristique de la famille des Astéracées.

Contrairement à l'extrait chloroformiques feuilles / fleurs pour lequel la teneur en polyphénols était plus faible avec une moyenne de 140 mg EAG/g pour les feuilles et 130 mg EAG/g pour les fleurs. Le taux moyen des polyphénols totaux de l'extrait méthanolique obtenu dans notre étude est légèrement plus élevé que celui enregistré par **Gökbulut et al., (2013)**; **Abu-Qatouseh et al., (2013)**; **El Ouriachi et al., (2014)**; **Chahmi et al., (2015)**; **Mahmoudi et al., (2016)**

En ce qui concerne la teneur en flavonoïdes une valeur de 123.36 mg ER/g a été enregistrée pour l'extrait méthanolique des feuilles et 97.60 mg ER/g pour l'extrait méthanolique des fleurs. Les résultats obtenus sont relativement plus élevés par rapport à ceux obtenus par **Qatouseh et al. (2013)** et ceux de **Chahmi et al. (2015)**, qui ont obtenu des valeurs en flavonoïdes de 32 et de 74 mg EQ/g sec en utilisant le di-éthyl éther et l'éthyle acétate comme solvant d'extraction.

Contrairement à l'extrait chloroformiques feuilles / fleurs pour lequel la teneur en flavonoïdes était plus faible avec une moyenne de 38.1 mg EAG/g pour les feuilles et 29.26 mg EAG/g pour les fleurs. La grande distinction entre les parties apparaît au niveau de la richesse et la pauvreté des autres les feuilles enregistrent un maximum de flavonoïdes tandis que les fleurs renferment des teneurs en flavonoïdes très faible. En ce qui concerne le solvant, le méthanol reste le meilleur extracteur des polyphénols.

Au vu de ces résultats et par comparaison à la littérature, la variabilité du rendement et de la teneur en polyphénol et flavonoïdes des différents extraits peut être due à l'origine géographique de la plante, aux conditions climatiques et à la saison de récolte.

Par ailleurs, le séchage et le stockage de la matière végétale ainsi que la méthode d'extraction influent largement sur la qualité organoleptique des extraits (**Lee et al.,2003**; **Smith et al., 2005**; **Rai et Carpinella, 2006**).

Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes sont fortement affectées par les solvants d'extraction. En fait, la solubilité des polyphénols est gouvernée par le type de solvant utilisé, leur degré de polymérisation ainsi que de leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles. Pour une plus haute récupération de polyphénols, le méthanol est le solvant le plus approprié (**Falleh et al., 2008**).

Comme la plupart des espèces de la famille *des Asteraceae*, *Inula viscosa* a montré une activité antimicrobienne variable contre de nombreux micro-organismes.

L'activité antibactérienne des différents extraits de feuilles et fleurs d'*Inula viscosa* a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé contre 4 souches de références provenant de Groupement SAIDAL (Wilaya de Médéa), 15 souches les plus résistantes isolées.

Ce test a montré une grande hétérogénéité dans les résultats. Cela est démontré par les différences notées au niveau des diamètres d'inhibition.

En se référant aux résultats obtenus par la méthode de diffusion, il en ressort que l'extrait méthanolique des feuilles à la plus forte activité sur la totalité des souches testées (bactéries Gram+, Gram-). Ces résultats sont proches à ceux obtenus par (**Laghrifi et al., 2013 ; Chebouti, 2016**).

Ainsi les extraits chloroformiques des feuilles et des fleurs ont montré une activité modérée sur quelques bactéries : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Providencia rettgeri*, *Acinetobacter baumannii*.

De plus les extraits hexaniques des feuilles et des fleurs ont eu une activité très faible voire nulle sur la totalité des souches testées.

L'activité antibactérienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présent dans ces extraits, les flavonoïdes, les tannins et les triterpénoïdes ainsi que d'autres composés de nature phénolique ou groupes hydroxyle libre, qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs (**Rojas et al., 1992 ; Marjori, 1999**).

La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antibactérienne des extraits d'une même plante.

En effet l'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait (**Essawi et Srour, 2000**). Cela est interprété par le fait que les plantes produisent une variété énorme de petites molécules antibiotiques ayant un large spectre de structures telles que les terpénoïdes, les glycostéroïdes, les flavonoïdes et les polyphénols.

Cependant, la plupart de ces petites molécules ont une faible activité antibiotique par rapport aux antibiotiques communs produits par les bactéries et les champignons (**Sarker et al., 2005**).

L'analyse des méthodes employées, par l'ensemble des travaux répertoriés, pour la détermination de la CMI a mis en évidence une grande variabilité entre les études. En effet, nous avons constaté que la majorité des études ont fait appel à la technique de diffusion en milieu liquide. Selon l'étude de **Budzyńska** et ces collaborateurs (2009), cette technique est plus sensible que la méthode de diffusion en milieu solide offrant une meilleure précision et une meilleure reproductibilité des résultats.

L'activité inhibitrice des extraits a été identifiée dans une large gamme de concentrations allant de 0.75 à 100 mg/ml pour les extraits polyphénoliques et hexaniques. Les CMI des extraits varient entre 25mg/ml- 6.25mg/ml et CMB entre 50mg/ml-12.5mg/ml.

On se référant au résultat il ressort que les extraits méthanoliques feuilles/fleurs ont montré des CMI et CMB les plus faible contre *S.aureus*, *A.baumannii*, *S.pyogenes* contrairement aux extraits chloroformiques et hexaniques. Les résultats que nous avons obtenus sont dans l'ensemble comparables à ceux déjà publiées par (**Laghrifi et al., 2007**) .

Le rapport CMB/CMI indique la nature de l'activité antibactérienne. D'après **Marmonier. (2013)**, lorsque le rapport CMB/CMI est inférieur ou égale à 4, l'agent antibactérien est considéré comme bactéricide. Nous constatons que l'action de la majorité de nos extraits d'*Inula viscosa* était bactéricide.

En se référant aux résultats obtenus de l'aromatogramme et de la CMI, il en ressort que l'action des extraits d'*Inula viscosa* est remarquée beaucoup plus sur les bactéries à Gram positif, que sur les Gram négatif. Ces résultats ont également été obtenus par **Laghrifi et al., (2003)**, **Abu hamdah et al., (2013)**, et par **Chebouti, (2016)**.

Les différences de sensibilité des bactéries à Gram négatif et des bactéries à Gram positif indiquées par la présence des substances antimicrobiennes vu à être liés à la structure et la composition de leurs parois cellulaires . En effet les bactéries à Gram positif ont une couche externe plus perméable riche aux peptidoglycane alors que les bactéries à Gram négatif ont une barrière extérieure plus rigide phospholipides (**Grevenstuket al.,2009**).

Selon les résultats de la comparaison entre l'action des extraits d'*Inula viscosa* et l'action des antibiotiques, il en ressort que l'ensemble de nos extraits phénoliques plus précisément l'extrait méthanolique feuille, a prouvé un effet inhibiteur important par rapport à l'antibiotique de référence, sur toutes les souches jugées multirésistantes : *A.baumannii* BLSE et SARM.

Ainsi, ces résultats demeurent prometteurs, et pourraient servir de base pour davantage de travaux de recherche scientifiques expérimentaux, développant et confirmant l'efficacité antimicrobienne de ces produits naturels en faisant appel à des protocoles rigoureux et fiables se basant sur des études randomisées de haut niveau de preuve scientifique. Notamment, de proposer leur utilisation en tant qu'agents antimicrobiens alternatifs.

Globalement, il apparait que l'activité antibactérienne d'*Inula viscosa* reste diversifiée et variable en fonction des souches testées, des extraits utilisés et de l'organe végétal duquel ils sont issus.

Conclusion

&

Perspectives

CONCLUSION & PERSPECTIVES

La découverte des antibiotiques est une avancée majeure dans le domaine de la santé humaine. Ces traitements permettant de lutter contre les infections bactériennes et contribuent à sauver de nombreuses vies.

Cependant, l'émergence et l'extension de l'antibiorésistance compromet leur efficacité, et représente une grave menace de santé publique. On craint alors un retour à une ère pré-antibiotique où la moindre infection bactérienne est susceptible d'entraîner la mort.

Dans la présente étude, l'identification des germes isolés à partir de multiples sites de prélèvements montre la prédominance des entérobactéries (60.17%), qui occupent la première place des souches issues principalement à partir des prélèvements du tractus urinaire. Suivi par staphylocoques (15.58%), parmi eux les *S. aureus* qui ont été rencontrés beaucoup plus dans les prélèvements suppuratifs (96.29%).

Cependant, l'étude du profil de résistance de l'ensemble des bactéries étudiées, montre des niveaux de résistance alarmants vis-à-vis de plusieurs familles d'antibiotiques où les bêta-lactamines présentaient le pourcentage le plus élevé sur l'ensemble des bactéries à Gram positif et négatif testées. Cette résistance est associée à de nombreux mécanismes de résistance, parmi eux la production de bêta-lactamines, où 14.38% des entérobactéries ont montré une BLSE positive et 10.82% des souches productrices de BLSE parmi les BGN non fermentaire. Aussi, 6.89% de *S. aureus* sont résistants à la méticilline (bêta-lactamines).

Ainsi, l'activité antibactérienne des divers extraits des feuilles et des fleurs préparés à partir de la plante médicinale *Inula viscosa* a été étudiée, et cela par la technique de diffusion sur milieu solide vis-à-vis des souches les plus résistantes aux antibiotiques. Ce test a dévoilé une activité antimicrobienne variable contre ces nombreux micro-organismes isolés, qui était modérée voire souvent faible à nulle.

Cependant, l'effet inhibiteur de la croissance bactérienne le plus important, est observé par l'extrait méthanolique feuilles. Ce dernier a montré une bonne activité contre la majorité des souches isolées, qui parmi ceux, les bactéries à Gram positif où des moyennes de DZI les plus important sont observés contre SARM ($15.33 \pm 0.5\text{mm}$). Aussi bien pour la BGN non fermentaire, *A. baumannii* BLSE où la moyenne des DZI observée est de ($28 \pm 0.5\text{mm}$).

Contrairement, l'extrait aqueux n'a montré aucune activité antibactérienne vis-à-vis la totalité souches, et cela pour les deux parties aériennes fleurs et feuilles d'*I. viscosa*.

De plus, l'évaluation des propriétés antibactériennes CMI et CMB des extraits méthanoliques, chloroformiques, hexaniques, des deux organes feuilles et fleurs de la plante médicinale *I. viscosa in vitro*, a révélé que cette espèce végétale possède un effet bactéricide sur la totalité des souches testées.

Au vu de ces résultats, cette plante pourrait constituer un espoir dans le soulagement des affections microbiennes, véritable menace de santé publique.

A la lumière de ces résultats, et sachant que notre pays possède une biodiversité immense de plantes, dont chacune se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires dotés d'effets thérapeutiques qui méritent d'être exploités, comme perspectives on propose :

- D'approfondir les études ethnopharmacologiques sur *I. viscosa*, confirmer les résultats obtenus *in vitro* par des tests *in vivo* et faire des tests de toxicité.
- D'identifier les polyphénols en général et les flavonoïdes en particulier qui pourraient avoir une activité antibactérienne pour approfondir non seulement les connaissances sur les différentes molécules pourvues de cette activité, mais aussi pour cerner d'une manière plus fine les différentes actions possibles de ces composés et leur synergie.
- Enfin, proposer d'éventuelles préparations galéniques à usage externe (industries pharmaceutiques) à base d'*Inula viscosa* et l'investigation de mélanges d'extrait à base de plusieurs plantes.

Aujourd'hui le maître mot doit être « le juste usage des antibiotiques » : chaque prescription doit être réfléchi, en mettant en balance les effets bénéfiques à court terme pour le patient (qui reste bien sûr prioritaire s'il est effectivement atteint d'une infection bactérienne) et les effets néfastes pour le patient mais aussi pour l'écologie bactérienne par la sélection des bactéries multirésistantes.

Références

Bibliographique



A

Abdul Rahman M.S, Thangaraj S, Salique S.M, khan K.F, Natheer S.E. (2010). Antimicrobial and biochemical analysis of some spices extract against food spoilage pathogens. *Internet Journal of Food Safety*, Vol.12, pp. 71-75.

Abu-Qatouseh L. F, Boutennoune H, Boussouf L, Madani K, Shihab P, Al-Qaoud K. (2013). In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to urease inhibitory effects of polyphenolic extracts of local herbs from Algeria. *The international arabic journal of antimicrobial agents*. Vol. 3 No. 4:4 1 – 9.

Adam K, Kokkini A, Lanaras S.T, Arsenakis M. (1998). *J.Agric, Food Chem.* 46: 1739-1745.

Al-Dissi N.M, Salhab A.S, Al-Hajj H.A. (2001). Effects of *inula viscosa* leaf extract on abortion and implantation in rats. *Journal of Ethnopharmacology* **77**: 117–121.

Alekshun M.N, Levy S.B (2007). Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128 : 1037-1050.

Ali-Shtayeh M.S, Abu Ghdeib S.I (1999) Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses* 42:665-72

Ayad A. (2010). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Tlemcen. Thèse de magister.



B

Baba Ahmed-Kazi Tani Z, Decré D, Genel N, Boucherit-Otmani Z, Arlet G, Drissi M (2013). Molecular and epidemiological characterization of enterobacterial multidrug-resistant strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008-2010). *Microb. Drug. Resist.* 19:185-90.

Baba aïssa F. (1991) .Les plantes médicinales en Algérie Co-édition Bouchème et A Diwan. Pp 69

Barbetti P, Chiappini I, Fardella G, Menghini A. (1985). A new eudesmane acid from *Dittrichia(Inula) viscosa*. *Planta Med.*, 51, 471.

Belabbes H, Elmdaghri N, Hachimi K, Marih L, Zerouali K, Benbachir M.(2001).Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* isolé des infections communautaires et hospitalières à Casablanca. *Méd Mal Infect.*31: 25–8

Belaiche P. (1979). *L'aromatogramme*. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie.

Bellakhdar J. (1997). La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires - Saint –Etienne, Edit. Ibis Press.

Belmonte O, Drouet D, Alba J, Moiton M.P, Kuli B, Lugagne-Delpon N, Mourlan C, Jaffar-Bandjee M.C. (2010). Evolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques sur l'île de la Réunion : émergence des β -lactamases à spectre élargi. *Pathologie Biologie*. 58: 18–24.

Benayache S, Banayache F, Dendoughi H. and Jay M. (1991). Les Favomoïdes de *Inula viscosa* L. *Plantes médicinales et phytothérapie*. Tome 25, n°4 .p 170-176

Ben Haj K, Khedher M. (2010). Fréquence et profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des hémocultures au CHU de Mahdia. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*. 3 : 92 – 95.

Benjemaa Z, Mahjoubi F, Ben Haj Hemida Y. (2004). Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux antibiotiques des bactéries en cause dans la région de Sfax (1993–1998). *Pathol Biol* 52 : 82-8.

Ben Redjeb S, Ben Hassen A, Hammami A, Kechrid A. (2000). Epidémiologie des résistances bactériennes en Tunisie. Laboratoire “Résistance aux antibiotiques” - Faculté de Médecine - Tunis.

Berche P, Gaillard J.L, Simonet M. (1988). Bactériologie. Les bactéries des infections humaines. - Ed. Flammarion, « De la biologie à la clinique ». 649 P.

- Berka-Zougali B, Ferhat M.A, Hassani A, Chemat F, Allaf K.S. (2012).** Comparative study of essential oils extracted from Algerian *Myrtus communis* L. leaves using microwaves and hydrodistillation, International Journal of Molecular Science. 13: 4673–4695.
- Berrazeg M, Drissi M, Medjahed L, Rolain J M (2013 b).** Hierarchical clustering as a rapid tool for surveillance of emerging antibiotic-resistance phenotypes in *Klebsiella pneumoniae* strains. J. Med. Microbiol. 62: 864-74.
- Bohlman F, Czerso H, Schoneweiss S.(1977).**New constituents of *Inula viscosa* Ait.chem.Ber.110, 1330-1334.
- Bonjar, Shahidi G.H. (2004).** Evaluation of antibacterial properties of Iranian medicinal plants against *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* and *Bordetella broncho septic*a. Asian J. Plant Sci. 3(1): 82-6.
- Bouchillon S.K, Johnson B.M, Hoban D.J. (2004).** Determining incidence of extended-spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae*, Vancomycinresistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 19 countries: The PEARLS study 2001-2002. Int. J. Antimicrob. Agents; 24: 119-124.
- Boulahbal F, (2006).**microbiologie.S1 clinique.5eme édition.127-145
- Boumaza D. (2011).** Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : Inule visqueuse, *Rosmarinus officinalis* de la région d’Oran, thèse de magister.
- Brown J, Khodr H, Hider R, Rice-Evans C. (1998).** Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. Biochemical Journal. 330:1173-1178.
- Brun-Buisson C.** «Le dépistage des porteurs de bactéries multirésistantes : chez quels patients ? », SRLF et Lavoisier SAS, 24:S304-S314, le 28 octobre 2014, DOI 10.1007/s13546-014-0940-7
- Bruneton J. (1993).** *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales.* pp 41-54. 2^o édition,Lavoisier, Paris.
- Bssaibis F, Gmira N, Meziane M. (2009).** Activité antibactérienne de *Dittrichia viscoa* (L.) W.Greuter. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. 3 (1) : 44-55.

Budzyńska A, Wieckowska-Szakiel M, Kalembe D, Sadowska B, Rózalska B.(2009).The optimization of methods utilized for testing the antibacterial activity of essential oils. *Med Dosw Mikrobiol.* 61(3):281-7.

Burt S.A, & Reinders R.D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology* 36(3) : 162-167.



Chahmi N, Jaouad A, Sanae J, Abdellah F, Khalid S, El Hassouni M. (2015). Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of morocco. *Asian Pac J trop Biomed* 2015;5(3) 228/233

Chebouti-Meziou N. (2016). Contributions to Study of the Antimicrobial Activity of *InulaViscosa* Harvested in Boumerdes (Algeria). *Int'l Journal of Advances in Chemical Engg., & Biological Sciences (IJACEBS)* Vol. 3, Issue 1. ISSN 2349-1507 EISSN 2349-1515

Cornaglia G, Ligozzi M, Mazzariol A. (1995). Rapid increase of resistance to erythromycin and clindamycin in *Streptococcus pyogenes* in Italy. The Italian Surveillance Group for Antimicrobial Resistance. *Emerg. Infect. Dis.* 2 (4): 339-342



Dabboussi F, Daher W, Izard D. (2003). Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* at north Lebanon: place of the methicillin resistance and comparison of detection methods. M. Hamze a,*, d12 avril 2002 M. Hamze et al. / *Pathologie Biologie* 51(24) : 21–26

Denis F, Ploy M.C, Martin C, Bingen E, Quentin R. *Bactériologie médicale: Techniques usuelles.* Ed Elsevier Masson. Paris. P : 145-154.

Djennane F, Mohammedi D, Tiouit D, Touati D, Rahal K. (2009). Examen Cytobactériologique des Urines. *Techniques Microbiologiques.* Institut Pasteur d'Algérie. P76

Djeridane M, Yousfi B, Nadjemi D, Boutassouna P, Stocker N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. *Food Chemistry*, 97, 654-660.

Drissi M, Poirel L, Mugnier P-D, Baba Ahmed Z, Nordmann P. (2010). Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii*, Algeria. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. DOI: 10/1007/s 10096-010-1011-2. Letter to the Editor.

Dupont M, Pagès J.M, Lafitte D, Siroy A, Bollet C. (2005). Identification of an OprD homologue in *Acinetobacter baumannii*. *J Proteome Res*. 4: 2386-90.

Durand A, Dupré C, Robriquet L. (2016). « Faut-il isoler les patients porteurs de BMR », SRLF et Lavoisier SAS, DOI 10.1007/s13546-016-1184-5



Eddouks M, Maghrani M, Lemhadri A. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the southeast region of Morocco (Tafilalet). *J Ethnopharmacol* 82:97-103

El Bour M, Fendri C, Ben Hassen A. (1993). Study of antibiotic sensitivity of *Streptococcus pyogenes* isolated in a hospital milieu (Charles Nicolle Hospital of Tunis). *Méd. Trop.* 53(1): 13-1

Elouennass M, Sahnoun I, Zrara A, Bajjou T, Elhamzaoui S. (2008). Epidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002-2005). *Médecine et maladies infectieuses*. 38 : 18-24.

El Ouriachi E, Bouyanzer A. (2014). Antioxidant activity of solvent extracts of *Inula viscosa* from Morocco. *rabian Journal of Chemical and Environmental Research*. Vol.1 N°1 : 33-40.



Faleiro M. L, Miguel M.G, Ladeiro F, Venancio F, Tavares R, Brito J.C, Figueiredo A. C & Pedro L.G. (2003). Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. *Letters in Applied Microbiology*, 36(1-5).

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331, 372-379.

Fauchère J.L, Avril J. L. (2002). M.S.A. tome 1- (204) *Bactériologie générale et médicale*. Ellipses, Editions Paris, (365).

Fauron R, Moati R. (1983). Guide pratique de phytothérapie. Ed. MALOINE. pp 811.

Fouad Mohamed. (2004). Intérêt du test de leucocyte estérase et de la nitrate réductase dans le management des suspects d'une infection urinaire à Abidjan. Thèse Méd. Abidjan

Fournier P. (1947). Livre des plantes médicinales et veneneuses de France. Ed. LE CHEVALIER. Tome 1 pp 176-178.

Franco-Mican S.X, Castro J, Campos M. (2008). Observation du complexe parasitaire de l'inule visqueuse en Espagne et ses méthodes de propagation, *Le Nouvel Olivier*. n°66, nov-déc



Gangoué Piéboji J, Koulla-Shiro, Ngassam P, Adiogo D, Njine T. et Ndumbe P. (2004). Antimicrobial resistance of Gram-negative bacilli isolates from inpatients and outpatients at Yaounde Central Hospital, Cameroon. *International Journal of Infectious Diseases*; 8: 147-154.

Gökbulut Alper, Özhan Onural, Basri Satılmış, Kadir Batçoğlub, Selami Günalc and Engin Şarera (2013). Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Phenolic Compounds of Selected *Inula* species from Turkey. *Natural Product Communications* Vol. 8 (4).

Grevenstuk T, Gonc S, Almeida S, Coelho N, Quintas C, Gaspar M.N, Romano A, (2009). Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Properties of *in vitro* cultured *Drosera intermedia* Extracts, *Natural Product Communications* 4:1-6.

Guardabassi L, Courvalin P. (2006). Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In : Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press : Washington .1-18.

Guignard J.L. (1994). Abrégé Botanique, 9ème Ed. 204.



Hamdi P, Bentghouala Y, Moulahoum C.T. (1997). Essais d'activité anti fongique et antibactérienne d'*Inula viscosa* L.

Hammami A. (2009). Sfax Profil actuel de la Résistance aux Antibiotiques des principales Bactéries Communautaires en Tunisie Laboratoire de Microbiologie CHU H. Bourguiba

Hammerum, A. M., A. R. Larsen, F. Hansen, U. S. Justesen, A. Friis-Moller, L. E. Lemming, K. Fursted, P. Littauer, K. Schonning, B. Gahrn-Hansen, S. Ellermann-Eriksen, B. Kristensen, A. M. Hammerum, A. R. Larsen, F. Hansen, U. S. Justesen, A. Friis-Moller, L. E. Lemming, K. Fursted, P. Littauer, K. Schonning, B. Gahrn-Hansen, S. Ellermann-Eriksen, and B. Kristensen (2012). Patients transferred from Libya to Denmark carried OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae*, NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* and meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Int.J.Antimicrob.Agents. 40:191-192.

Hamze M., Dabboussi F. et Izard D. 2003. Enterobacterial susceptibility to antibiotics in northern Lebanon (1998-2001). Cahiers d'études et de recherches francophones / Santé; 13(2): 107-12.

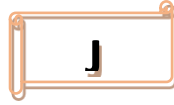
Harborne J.B. (1980). Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology. New series. Vol. (8):329-402.

Hassanzadeh P, Motamedifar M, Hadi N. (2009). Prevalent bacterial infections in intensive care units of Shiraz University of medical sciences teaching hospitals, Shiraz, Iran. Jpn. J. Infect. Dis. 62:249-53.

Hayes A, Markovic B. (2002). Toxicity of australian essential oil *Backhousia citriodora* Part I antimicrobial activity and invitro cytotoxicity. Food Chem. Toxicol., 4: 949-964.

Holstein A, Grillon A, Yzon L, Morange V, Baty G, Lartigue M.F, Mereghetti L, Goudeau A, Lanotte P. (2010). Prévalence des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* productrices de B-lactamases à spectre étendu de type CTX-M à l'hôpital Bretonneau (CHRU de Tours) Pathologie Biologie. 58 : 67-69.

Houpkounou E. (2003). Etude comparée de l'identification et de la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes* isolées d'infections humaines. (Données prospectives à Dakar) Thèse Pharm., Dakar, n° 43.



Jean-Baptiste P. (2016). Comparaison de trois stratégies de dépistage des bactéries multi-résistantes en réanimation chirurgicale. Médecine humaine et pathologie (thèse de doctorat) UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES Faculté de Médecine PARIS DESCARTES.

Joly B, Reynaud A. (2007). Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris. p.3.

Jone M.E, Draghi D.C, Thornsberry C, Karlowsky J.A, Sahm D.F, Wenzel R.P (2004). Emerging resistance among bacterial pathogens in the intensive care unit--a European and North American Surveillance study (2000-2002). Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 3:14.

Jones W. P, Kinghorn A.D (2005). Extraction of plant secondary metabolites. In: Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. Humana Press (Totowa), pp: 323-411.



Kamanzi AK. (2002). Plantes médicinales de Côte d'ivoire : Investigations phytochimiques guidées par des essais biologiques. Thèse de doctorat, Université de Cocody, Abidjan, p 176.

Kohanski M.A, Dwyer D.J, Collins J.J. (2010). How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. 8(6):423-35. doi: 10.1038/nrmicro2333.

Kumar M, Agarwala R, Deyb K, Raib V, Johnsonc B. (2009). Antimicrobial Activity of Aqueous Extract of *Terminalia chebula* Retz. On Gram positive and Gram negative Microorganisms. International Journal of Current Pharmaceutical Research Vol. 1 (1): 56-60.

Kouadio NJ, Guessenn NK, Koné MW, Moussa B, koffi YM, Guédé KB, Yao K, Bakayoko A, TRA BFH, Dosso M. 2015. Evaluation de l'activité des feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) sur des bactéries multirésistantes et criblage phytochimique. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **9**(3): 1252-1262. DOI <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.10>. Kuete V. 2010. Potential of Cameroonian

Kunle O, Okogun J. (2003). Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine*, **10**, 59-61.



Laghrifi K, El Idrissi M, Makoudi Y, Alnamer R. (2013). *In Vitro* Antibacterial Activity Of The Methanolic And Ethanolic Extract Of *Inula Viscosa* Used In Moroccan Traditional Medicine. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical SCIENCES* **2**: 5 3963-3976.

Lahlou M, Berrada R, Agoumi A, Hmamouchi M. (2000). The potential effectiveness of essential oils in the control of human head lice in Morocco. *Int J Aromather*; **10**:108–23.

Lastra C, Lopez A, Motilva V. (1993). Gastroprotection and prostaglandin E2 generation of rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Medica* **59**: 497–501.

Lauro L, Rolih C (1990). Observations and research on an extract of *Inula viscosa* Ait. *Boll Soc Ital Biol Sper* **66**:829-34

Leclercq R. (2002). Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. - *Ann. Fr. Anesth. Réanim.*, **21**(5), 375-383. Leclercq, 2002.

Legeay C, Bourigault C, Kouatchet A.T, Lepelletier D, Zahar J.R. (2014). « De la colonisation à l'infection par des bactéries multirésistantes aux antibiotiques : identification et maîtrise du risque chez les patients hospitalisés en réanimation », SRLF et Lavoisier SAS, DOI 10.1007/s13546-014-1011-9

Le Minor L, Veron M. (1984). Les staphylocoques et les microcoques. In *Bactériologie médicale*. Ed. Flammarion, 526 p. Le Minor et Veron, 1984

Leotard S. et Negrin N. (2010). Epidémiologie des entérobactéries sécrétrices de B-lactamases à spectre étendu (E-BLSE) au centre hospitalier de Grasse (2005–2008). *Pathologie Biologie*; **58** : 35-38.

Levy S.B. (1977).Fecal in recurrent urinary tract infection. N. Eng. J. Med, 296: 813-814.

Liaid A. (2012). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de magister. Université d'Abou Bekr Belkaid- Tlemcen.

Li J, Nation Roger L, Milne Robert W, Turnidge John D, Coulthard K. (2005). Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. Int Journal of Antimicrobial Agent. 25: 11-25.

Lin M.F, Kuo H.Y, Yeh H.W, Yang C.M, Sung C.H, Tu C.C, Huang M.L, Liou L.M. (2011). Emergence and dissemination of *bla*OXA-23-carrying imipenem-resistant *Acinetobacter* sp in a regional hospital in Taiwan. J. Microbiol. Immunolo. Infect. 44 : 39-44.

Lyon B.R, Skurray R. (1987). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. Microbial. Rev, 51(1), 88-134.



Madigan M, Martinko J. (2007).Biologie des microorganismes.11^{ème} édition, Paris : Pearson, 1088p.

Máñez S, Hernández V, Giner R.M, Ríos J.L, Recio M.C. (2007). Inhibition of proinflammatory enzymes by inuviscolide, a sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. Fitoterapia78: 329–331.

Manuela–Anda R.P., Dumitriu Silvia, Enache-Soare S, Bancescu G, Udristoiu A, Cojocarus M, Vagu C. (2010). Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance patterns in *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Romanian hospital. J *Antibiot.* 58 (3): 6.

Maoz M, Neeman I. (1998). Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporium canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. Lett. Appl. Microbiol. 26, 61–63.

Maoz M, Neeman I. (2000). Effect of *Inula viscosa* extract on chitin synthesis in dermatophytes and *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*. 71: 479–482.

Mariani-Kurkdjian P, Bingen E. (2007a). Analyse bactériologique des selles.

Mariani-Kurkdjian P, Bingen E. (2007b). Diagnostic bactériologique et suivi biologiques des méningites bactériennes.

Marmonier A. (1990) Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. *Bactériologie Médicale, technique usuelles*, 227-236.

Marot B, Montravers P, Chardon H, Rodriguez L, Garrigues B, Baldesi O. (2013). Infectieux – résistance bactérienne. Lavoisier.

Mesli E, Berrazeg M, Drissi M, Bekkhoucha S.N, Rolain J.M. (2013). Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo- β -lactamase in *Acinetobacter species*, Algeria. (2013). *Int J Infect Dis*. 16: S1201-9712.

Mesli E. (2010). Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* au niveau de CHU de Tlemcen. . Mémoire de magister. Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen.

Messai L, Achour W, Ben Hassen A. (2007). Profil épidémiologique des entérobactéries isolées chez des patients neutropéniques. *Pathologie Biologie*; 55: 230-234.

Mkaouar D, Mahjoubi F, Mezghani S, Znazen A, Ktari S, Hammami A. (2008). Étude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie (1999–2005). *Médecine et maladies infectieuses*. 38 : 293-298.

Mohand Ait Youcef, Sur. (2006). Les Plantes Médicinales De Kabylie. *Ibiss press*

Musher D.M, Lamm N, Darouiche R.O, Young E.J, Hammil R.J, Landon G.C. (1994)The current spectrum of *Staphylococcus aureus* infection in a tertiary care hospital. *Medecine*;73:186–208.



N

Nadmia H, Elotmani F, Talmi M, Zerouali K, Perrier-Gros-Claude J.D. et Timinouni M. (2010). Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes communautaires à El Jadida (Maroc). *Médecine et maladies infectieuses*; 40: 303-305.
62: 13-23

Nait-kaci S, Boukarana W, Rahal K (1998). Sensitivity to beta-lactams and macrolides of *Streptococcus pyogenes* isolated at the services from 1994 to 1998. *Arch. Inst. Pasteur, Alger.*

Neu H.C. (1992) .The crisis in antibiotic resistance. *Science*;257: 1064–72.

Nikaido H. (2009).Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem*, 78, 119-146.



O

Oksöz S. (1976). Taraxasterol acetate from *Inula viscosa*. *Plantamed*, 29(4): 343-345.



P

Pan T, Lin S, Yu Y, Horng C. (1996). Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of group A streptococci (*Streptococcus pyogenes*) isolated in Taiwan. *Zhonghua. Min. Guo. Wei. Sheng. Wu. Ji. Mian. Yi. Xue. Za. Zhi.*, 29(3): 153-161

Peleg A.Y, Seifert H, Paterson D.L. (2008). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen .*Clinical. Microbiol. REV.* 21 : 538-582.

Pezzlot M.T, Tan G.L, Peterson E.M, Maza L.M. (1982).Screening of urine cultures by three automated systems, *J. clin, Mecrobio*, 15:468-474.



Quezel P, Santa S.(1963). Nouvelle flore de L'Algérie et des régions désertiques méridionales.
Editions du Centre National de la recherche scientifique. Tome II.



Rabhi F. (2012). Contribution à l'étude de la résistance des bacilles à Gram négatif *non fermentants aux antibiotiques : cas de la colistine en réanimation. Thèse dmaster en microbiologie.* Université d'Abou Bekr Belkaid- Tlemcen

Radu-Popescu Manuela A, Dumitriu S, Enache-Soare S, Bancescu G , Udristoiu A, Cojocarus M, Vagu C .(2010). Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance patterns in *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Romanian hospital. 58(3): 6.

Ramoul A, Hammami S, Dekhil M, Amiri S, Slim A, Boutiba-Ben Boubaker I (2013). Phenotypic and genotypic characterization of clinical multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* from Algerian intensive care units. Afr.J.Microbiol.Res. 7:868-874

Remdane F.(2009). Analyse et caractérisation de quelques métabolites secondaires de la plante *Nauplius gravolens* (Shousb) de Tamanrasset. Thèse de magister,université Kasdi Merbah d'ouargla : 16-88.

Ribereau-Gayon P. (1964). "Les composés phénoliques des végétaux",. Ed. Dunaud, Paris. 254 p.

Roulier G (1990). Traité pratique d'aromathérapie, propriétés et indications thérapeutiques des Essences de plantes. Ed. Dangles. pp 64-65.

Rozenblat S., Grossman S., Bergman M., Gottlieb H., Cohen Y., Dovrat S. (2008). Induction of G2/M arrest and apoptosis by sesquiterpene lactones in human melanoma cell lines. Biochem. Pharmacol. 75: 369-382



Sabine.R.D. (1995).Antibiotiques et antibiogramme.322p.

Salomao R, Rosenthal V.D, Grimberg G, Nouer S, Blecher S, Buchner-Ferreira S, Vianna R, Maretti-da-Silva M.A. (2008). Device-associated infection rates in intensive care units of Brazilian hospitals: findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium Rev Panam Salud Publica. 24: 195-202.

Sarker S.D, Latif Z, Gray A.I. (2005). Natural products isolation. Humana Press (Totowa). Pp: 1-23.

Sarmi-Manchado P. et Cheymer V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier.Pp2- 10.

Sassi A.B, Harzallah-Skhiri F, Bourgougnon N, Aouni M. (2008). Antiviral activity of some Tunisian medicinal plants against Herpes simplex virus type 1. *Natural Product Research* 22, 53-65.

Sauermann R., Gattringer R., Graninger W., Buxbaum A., Georgopoulos A. (2003).Phenotypes of macrolide resistance of group A streptococci isolated from outpatients in Bavaria and susceptibility to 16 antibiotics. *Antimicrob. Chemother.* , 51(1): 53-57.

Schinella G,Tournier H, Prieto J ,Mordujovich P, Rios J. (2002).Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sci.*, 70, 1023–1033.

Sefraoui I. (2011). Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques des bactéries à gram négatif non hétérofermentaires au niveau du CHU de sidi Bel Abbes. Mémoire de magister. Université Abou Bekr Belkaïd- Tlemcen.

Seidel V. (2005). Initial and Bulk Extraction. In: Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. Humana Press (Totowa), pp: 27-37.

Side larbi K, Boumediene M.B, Tir touil M.C, Sonnet P. (2016). Central Analgesic Property of Extracts and Essential Oils from *Inula viscosa* And *Anacyclus valentinus* (*Asteraceae*) In Wistar Rats. *J. Appl. Environ. Biol. Sci.*, 6 (9). 72-77.

Singleton V.L, Rossi J.R. (1999). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphothungstic acid. *Am. J. Enol. Vitic*, 16: 144–158.

Small F. (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research. Number 45. Pp: 04



Traoré O, Souweine B, Leclercq R. (2002) « Dans quelles situations instituer des précautions de type « contact » chez les patients porteurs de bactéries multirésistantes ? », Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS, 11 le 13 juin 2002 pp 451-63.



Udo E.E, Grubb W.B. (1993).Genetic analysis of methicillin- resistant Staphylococcus aureus from a Nigerian hospital. J Med Microbiol; 38: 203–8.



Victoriano H, Carmen Recio M, Máñez S, Rosa M, Giner J.L. (2007). Effects of naturally occurring dihydroflavonols from *Inula viscosa* on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism. Life Sciences 81 (2007) 480–488. doi:10.1016/j.lfs.2007.06.006.



Wenqiao W, Ben D, Yigal C. (2004). Control of Plant Diseases by Extracts of *Inulaviscosa*, *Phytopathology*, PP: 1042-1047.



Yaniv Z, Dafni A, Friedman J, Palevitch D. (1987). Plants used for the treatment of diabetes in Israel. J Ethnopharmacol 19:145-51

Yegen O, Berger B, Heitefuss R. (1992). Investigations on the fungitoxicity of extracts of 6 selected plants from Turkey against phytopathogenic fungi. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz. J Plant Dis Prot* 99:349-59



Zachariadou L, Papaparaskevas J, Paraskakis I. (2003). Predominance of two M-types among erythromycin-resistant group a streptococci from Greek children. *Clin. Microbiol. Infect*, 9(4): 310-3

Zahoun A, Dao I, Karfo R, Essayagh T, Sekhsokh Y, Bousta M, Elhamzaoui S.(2010). Méningite nosocomiale postopératoire à *Acinetobacter baumannii* multirésistant en neurochirurgie : à propos d'un cas nosocomial. *Pathologie Biologie*. 29-31.

Zegwagh N.A, Ouahidi M.L, Lemhadri A, Eddouks M. (2006). Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of *Inula viscosa* L. Aqueous extract in normal and diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 108: 223–227.

Zeguerrou R, Guesmia H, Lahmadi S. (2013). Recueil des plantes médicinales dans la région de Ziban. Edition Dar El Houada, Algérie. ISBN: 978-9931-438-00-7.

Zirihi G.N, Kra A.K.M, Guédé G. F. (2003). Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lam.) O. Ktze (Asteraceae) « PYMI » sur la croissance in vitro de *Candida albicans*. *Revue médicale et pharm. Afric.* 17 : 1 – 19.

Ziyyat A, Legssyer A, Mekhfi H. (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in Oriental Morocco. *J Ethnopharmacol* 58:45-54

ANNEXE I

MATERIELS UTILISES POUR LES ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Milieux de culture liquides :

- Bouillon nutritif
- Bouillon SFM

Milieux de culture solides :

- Hecktoen
- Chapman
- Muller Hinton
- Gélose nutritive
- Gélose Columbia (gélose de base + sang)
- Milieu TSI

Réactifs et colorants :

- Kovacs
- TDA (tryptophane désaminase)
- VPI et VP II (Voges-Proskauer)
- NIT 1 + NIT 2
- ZYM A
- ZYM B
- Poudre de zinc
- Violet de gentiane
- Fuchsine
- Lugol
- Alcool à 90%
- Huile de vaseline
- Eau oxygénée(H₂O₂)
- Réactif de latex

Appareillage

- Etuve 37°C
- Bec bunsen
- Densitomètre
- Vortex
- Autoclave
- Appareil BacT-ALERT 3D
- Microscope photonique

Petits matériels

- Tubes à essai
- Portoir pour tubes à essai

- Pipettes pasteur
- Pipettes graduées
- Ecouvillons
- Anse de platine
- Boîtes de pétri stériles
- Eau physiologique stérile
- Lames et lamelles
- Cellule de malassez
- Pied à coulisse
- Pince stérile
- Disques d'antibiotique
- Carte d'agglutination
- Jarre à CO₂

MATERIELS UTILISES POUR L'ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS VEGETAUX

Matériels et réactifs d'extraction et de dosage des polyphénols, flavonoïdes

✚Matériels

- Agitateur magnétique.
- Evaporateur rotatif Rotavapor.
- Spectrophotomètre à UV
- Balance électronique
- Spatule
- Boîtes pétri en verre
- Moulin électrique (Moulinex)
- Papier filtre (whatmen)
- Entonnoir
- Erlenmeyer
- Tubes à essai stérile
- Papier d'aluminium
- Eprovette
- Densitomètre

✚Réactifs

- Solvants organiques (Méthanol, Hexane, Chloroforme).
- Folin ciocalteu.
- Acide gallique
- Carbonate de sodium
- Chloride d'aluminium
- Acide acétique
- Eau distillé

MATERIELS UTILISES POUR LES TESTS ANTIBACTERIENS *IN VITRO* :

+ Milieux de culture utilisés

- Bouillon Muller-Hinton
- Gélose Muller-Hinton

+ Réactifs

- Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- Eau physiologique

+ Petits matériels

- Pipettes pasteur et écouvillons
- Disques vierge diamètre 6mm
- pied à coulisse
- Tubes à hémolyse
- Micropipette
- Lambo
- Portoirs
- Pince stérile

Composition des différents milieux de cultures (Denis et al., 2007)

+ Milieux liquides

Bouillon nutritif

Peptone	5g/L
Extrait de viande de bœuf.....	1g/L
Chlorure de sodium	5g/L
Extrait de levure	2g/L
PH 7.4±0.2	

Bouillon Muller Hinton

Hydrolysate acide caséine	17.5g/l
Amidon	1.5g/l
Extrait de cœur en pate	5.09g/l
Ph 7.4 ± 0.2	

Bouillon SFM

Peptone de viande.....	5g/mL
Lactose.....	4g/mL
Sélénite de sodium	4g/mL
Phosphate dipotassique (Merck)	3,5g/mL
Phosphate monopotassique (Merck)	6,5g/mL

Sodium phosphate (Difco)10g/mL

PH 7,2

Gélose Clark et Lubs

Peptone tryptique de caseine5g

Phosphate bipotassique5g

Glucose5g

Eau distillée..... 1L

Milieu de Moeller

Milieu de base= milieu témoin

Chlorure de sodium5g

Extrait de levure 3g

Glucose1g

Bromocrésol poupre solution à 1%1,5 mL

Eau distillée1000mL

Milieu Urée- indole

L-tryptophane3g

Phosphate monopotassique1g

Phosphate dipotassique1g

Chlorure de sodium5g

Urée20g

Acool à 95° 10mL

Solution rouge de phénol à 1%2,5mL

Eau distillée 1L

L'eau physiologique

Chlorure de sodium9g

Eau distillée1000mL

BacT/ALERT Anaérobie

Tryticase soja40 mL

 **Milieux solides**

Gélose Hektoen

Protéose peptone	12g/L
Extrait de levure	3g/L
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	5g/L
Sels biliaires	9g/L
Citrate de fer ammoniacal.....	1.5g/L
Salicine	2g/L
Lactose	12g/L
Saccharose	12g/L
Fuchsine acide	0.04g/L
Bleu de bromothymol	0.065g/L
Agar	14g
PH 7.5	

Gélose Mueller Hinton

Infusion de viande de bœuf	300g/L
Hydrolysate de caséine	17,5g/L
Amidon	1,5g/L
Agar	17g/L
PH 7.4	

Gélose TSI

Extrait de viande de bœuf	3g/L
Extrait de levure	3g/L
Peptone tryptique	20g/L
Chlorure de sodium	5g/L
Citrate ferrique	0.3g/L

Milieu au citrate de Simmons

Chlorure de sodium	5g
Sulfate de magnésium 7 H ₂ O	0,2g

Phosphate	d'ammonium
PO ₄ H ₂ (NH ₄)	1g
Phosphate dipotassique PO ₄ HK ₂	2g
Citrate trisodique	2g
Solution de bleu bromothymol 1%	8mL
Agar	15g
Eau distillée	1L
PH 7-7,2	

Gélose Chapman

Extrait de viande de bœuf	1g/L
Peptone	10g/L
Mannitol	10g/L
Chlorure de sodium	75.0g/L
Rouge de phénol	0.025g/L
Agar	15g/L
PH 7,5 ± 0,2	

Gélose nutritive

Peptone	5g/L
Extrait de bœuf	1g/L
Extrait de levure	2g/L
Chlorure de sodium	5g/L
Agar	15g/L
PH 7,4± 0,2	

Gélose Columbia (gélose de base)

Peptone de soja	23g/L
Amidon	1g/L
Chlorure de sodium	5g/L
Agar	10g/L
PH 7,3 ± 0,2	

 **Réactifs**

Réactif de TDA

Soluté de perchlorure de fer $FeCl_3$	10mL
Eau distillée	20mL

Réactif de VPI

α -naphтол 6 g Alcool à 90° (qsp)	100 mL
--	--------

Réactif VPII

NaOH 4N

Réactif de Kovacs

Alcool amylique	5 g
Paradiméthylamino-benzaldéhyde	75mL
HCl pur	25mL

Fushine

Fuchsine basique	10g
Phénol.....	50g
Éthanol	100mL
Eau distillée	1L

Violet de gentiane

Violet de gentiane.....	10g
Phénol.....	20g
Éthanol (90 °GL).....	100mL
Eau distillée.....	1L

Lugol

Eau bi distillée	100mL
Iodure de potassium	2g
Iode.....	1g

Composition de Dexeryl pour 100g

Glycérol.....	15g
Vaseline.....	8 g
Paraffine liquide	2g

Excipients : Acide stéarique, Cyclométhicone, Diméticone, Eau purifiée, Glycérol monostéarate, Macrogol 600, P-hydroxybenzoate de propyle, Trolamine

Toutes les images figurées ci-dessous sont originales

Prélèvements

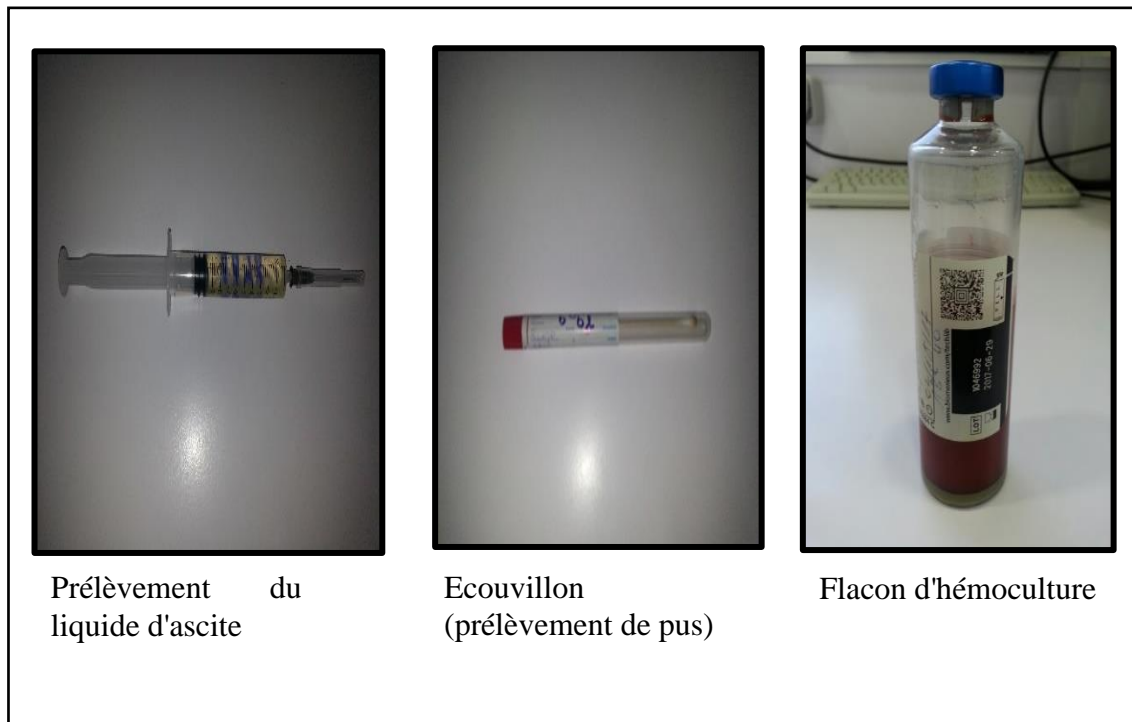


Figure 33. Différents types de matériel biologiques (prélèvements)

Appareillages



Appareil BacT-ALERT 3D



Microscope photonique



Vortex



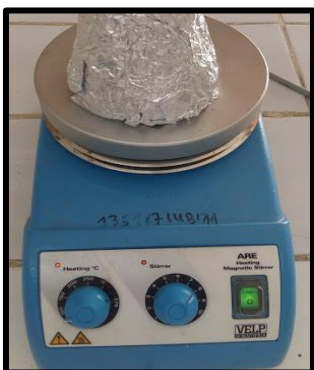
Jarre à CO₂



Densitomètre



Bec benzène



Agitateur magnétique



Rotavapor



Balance électronique

Figure 34. Les matériaux non biologiques (appareillages)

❖ Fiche de renseignements

المؤسسة الإستشفائية المتخصصة في الأمراض المعدية - الهادي فليسي - الجزائر
 ETABLISSEMENT HOSPITALIER SPECIALISE EN MALADIES INFECTIEUSES
EL - HADI FLICI - ALGER
 LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE 8926

FICHE DE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

N° d'ordre _____ N° du dossier _____ Service : Externe
 Nom : DJAKAR Prénom : NALITA Age : 62 ans Sexe : F
 Médecin traitant : _____ Profession : _____
 Adresse : _____ Commune : _____ Wilaya : Alger

EXAMEN BACTERIOLOGIQUE

• Hémo-culture :
 • Examen Cytobactériologique :

<input type="checkbox"/> LCR	<input type="checkbox"/> Urines	<input type="checkbox"/> Pus	<input type="checkbox"/> Autres Préciser : <u>prélevement de gorge.</u>
• Coproculture : <input type="checkbox"/>			
• Recherche de BK			
<input type="checkbox"/> TG/EX	<input type="checkbox"/> LCR	<input type="checkbox"/> LP	<input type="checkbox"/> Autres Préciser : _____

Tout prélèvement de bactériologie doit être adressé le jour même au laboratoire avant 10 H.

Date des précédents prélèvements de même nature : _____

Résumé Clinique : _____

patiente qui fait des angines à répétition

Diagnostic présumé : _____ (3 semaines)

Antibiothérapie en cours : _____ Date du début : _____ Nature : _____

pepaine (arrêter BK)

Antibiothérapie antérieure : _____ Durée : _____ Nature : _____

Date et heure du prélèvement : 21/07/2017











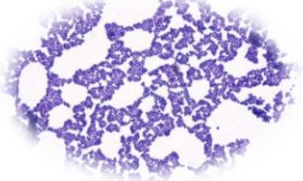

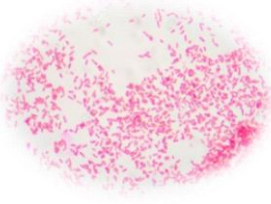
SIGNATURE DU MEDECIN


Figure 35. Fiche de renseignements clinique

❖ Coloration de Gram

Gram positif	Protocol	Gram négatif
	<p>-Réaliser un frottis sur une lame propre et le fixer</p>	
	<p>-Recouvrir la lame de violet de gentiane une minute, puis laver la lame avec de l'eau distillée</p>	
	<p>-Recouvrir de lugol une minute, puis laver à l'eau distillée</p>	
	<p>-Décolorer à l'alcool, la lame est tenue inclinée. La durée de décoloration est de 10 secondes. -Stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau distillée.</p>	
 	<p>-Recouvrir la lame de fuchsine, 30 secondes à 1 minute. -Laver à l'eau distillée -sécher entre deux feuilles de papiers filtre, puis à la chaleur -examiner à l'immersion objectif $\times 100$ -Les bactéries à Gram+ doivent apparaître colorées en violet et les bactéries à Gram- en rose.</p>	 

❖ Identification par les galeries Api

Identification des entérobactéries par la galerie Api 20E :

✚ Technique

- On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide et on place la galerie dans la boîte d'incubation.
- On prélève quelques colonies et on prépare une suspension bactérienne dans l'eau distillée stérile.
- On remplit les tubes et cupules des tests CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne et on remplit uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- On réalise une anaérobiose dans les tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
- On referme la boîte d'incubation qu'on incube à 37°C pendant 24H.
- Après incubation, on note sur la fiche de résultat, toutes les réactions spontanées.
- La révélation des trois TDA, VP et indole est faite par l'ajout des réactifs nécessaires (TDA, VP1, VP2 et KOVACS).
- L'identification est obtenue à l'aide d'un code obtenu après la lecture de la galerie.

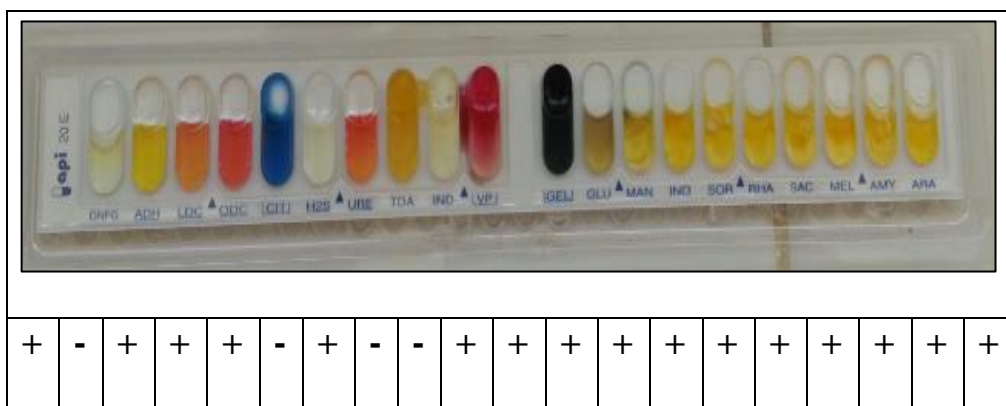


Figure 37. Identification de *Klebsiella pneumoniae* par la galerie Api 20E

Tableau XX : Tableau de lecture des résultats de la galerie API20^E

TESTS	SUBSTRATS	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
			NEGATIF	POSITIF
ONPG	ortho-nitro-phenyl-galactoside	beta-galactosidase	incolore	jaune (1)
<u>ADH</u>	arginine	arginine dihydrolase	jaune	rouge/ orangé (2)
<u>LDC</u>	lysine	lysine décarboxylase	jaune	orangé
<u>ODC</u>	ornithine	ornithine décarboxylase	jaune	rouge/ orangé (2)
<u>CIT</u>	citrate de sodium	utilisation du citrate	vert pâle/ jaune	bleu-vert/ bleu (3)
<u>H₂S</u>	thiosulfate de sodium	production d'H ₂ S	incolore/ grisâtre	dépôt noir/ fin liseré
<u>URE</u>	urée	uréase	jaune	rouge/ orangé
TDA	tryptophane	tryptophane desaminase	TDA / immédiat	
			jaune	marron foncé
IND	tryptophane	production d'indole	JAMES/ immédiat ou IND/ 2 mn	
			JAMES incolore Vert pâle-jaune IND jaune	JAMES rose IND Anneau Rouge
<u>VP</u>	pyruvate de sodium	production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			incolore	rosé-rouge
<u>GEL</u>	gélatine de Kohn	gelatinase	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	glucose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
MAN	mannitol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
INO	inositol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
SOR	sorbitol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
RHA	rhamnose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
SAC	saccharose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
MEL	melibiose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
AMY	amygdaline	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
ARA	arabinose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune

(1) Une légère couleur jaune est également positive.

(2) Une couleur orange apparaissant après 24H d'incubation doit être considérée négative.

(3) Lecture dans la cupule (zone aérobie).

(4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.

Identification des staphylocoques par la galerie Api 20 Staph :

Principe

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique.

Technique :

- Les tests de la galerie se présentent sous forme déshydratée, leur reconstitution se fait lors de l'addition à chaque tube d'AP STAPH Mediumensemencé avec la souche étudiée.
- Remplir les tubes de la galerie à l'aide d'une pipette avec AP STAPH Mediumensemencé
- Remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Incuber à 35-37c° pendant 18-24h

Lecture et interprétation

- Lecture

Après incubation, lire les réactions conformément au Tableau de lecture en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants :

- Test VP : VPI et VPII.

Attendre 10 minutes, une couleur rose franche ou violet indique une réaction positive .une couleur rose pâle ou rose claire obtenue après 10 minute doit être considérée négative

- Test NIT : NIT 1 et NIT 2

Attendre 10 min, une couleur rouge indique une réaction positive.

- Test PAL : ZYM A et ZYM B

Attendre 10 min, une couleur violette indique une réaction positive.

Interprétation

L'identification est obtenue à partir du profil numérique .Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2,4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique.

✚ Identification

Elle est réalisée à partir de la base de données à l'aide du Catalogue Analytique :

- on recherche le profil numérique dans la liste des profils.

Tableau XXI : Tableau de lecture de la galerie API 20 Staph

TESTS	SUBSTRATS	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
			NEGATIF	POSITIF
0	Aucun	Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-Glucose	(Témoin positif)	rouge	jaune
FRU	D-Fructose	Acidification à partir du carbohydate		
MNE	D-Mannose			
MAL	Maltose			
LAC	Lactose			
TRE	D-Trehalose			
MAN	D-Mannitol			
XLT	Xylitol			
MEL	D-Mélibiose			
NIT	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	<u>NIT 1 + NIT 2 / 10 min</u>	
			incolore-rose pâle	rouge
PAL	β -naphtyl ac. phosphate	Phosphatase alcaline	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u>	
			jaune	violet
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl méthyl-carbinol	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u>	
			incolore	violet-rose
RAF	Raffinose	Acidification à partir du carbohydate	rouge	jaune
XYL	Xylose			
SAC	Saccharose			
MDG	α -méthyl-D-glucoside			
NAG	N-acétyl-glucosamine			
<u>ADH</u>	Arginine	Arginine dihydrolase	jaune	orange-rouge
<u>URE</u>	Urée	Uréase	jaune	rouge-violet

→ Les tests MNE et XLT peuvent être oranges, lorsqu'ils sont entourés ou précédés de tests positifs. On doit alors les considérer comme négatifs

❖ Identification des bacilles à gram négatif non entérobactéries

✚ Principe

La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique

✚ Technique :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide
- Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (2 ml), A l'aide d'une pipette pasteur prélevé 1 à 4 colonies de morphologie identique.
- Réaliser une suspension d'opacité égale à 0,5 de McFarland. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

✚ Inoculation de la galerie

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG avec la suspension précédente en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement.
- Ouvrir une ampoule d'API AUX Medium et y transférer environ 200 µl de la suspension précédente. Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir tubes et cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave.
- Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) pour former un ménisque convexe. • Refermer la boîte d'incubation et incubé à 37°C pendant 24 heures.

✚ Lecture et interprétation

- Lecture de la galerie

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture. Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées (GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPG). Révélation des deux tests NO₃ et TRP :

- Test NO₃ :

Ajouter une goutte de réactifs NIT 1 et NIT 2 dans la cupule NO₃. - Après 5 mn, une couleur rouge indique une réaction positive, à noter sur la fiche de résultats. - Une réaction négative peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) ; ajouter 2-3 mg de réactif Zn dans la cupule NO₃.

- Après 5 mn, une cupule restée incolore indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule devient rose-rouge, la réaction est négative car les nitrates encore présents dans le tube ont alors été réduits en nitrites par le zinc.

- **Test TRP :**

Ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive.

- **Tests d'assimilation :**

Observer la pousse bactérienne. Une cupule trouble indique une réaction positive. Des pousses d'intensité intermédiaire peuvent être observées et notées – + ou +-.

+ **Interprétation**

L'identification est obtenue à partir du profil numérique. Elle est réalisée à partir de la base de données à l'aide du Catalogue Analytique :

- Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

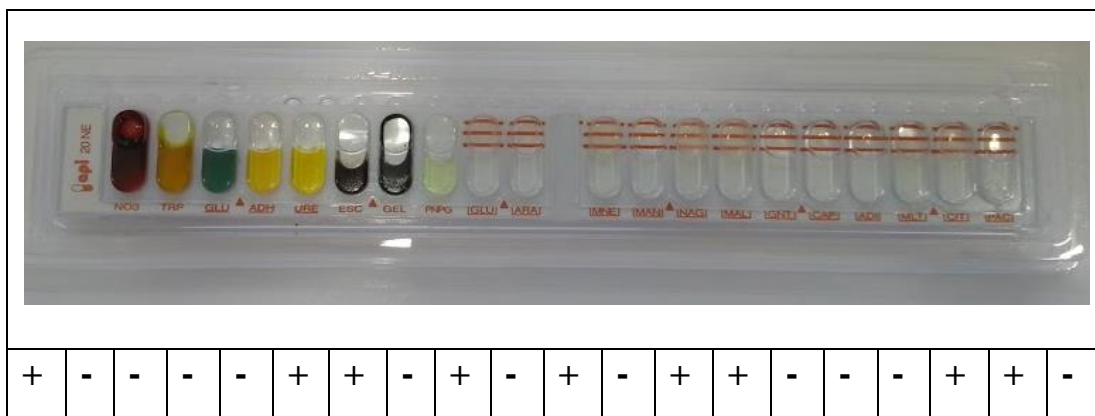


Figure 37. Identification d'*Acinetobacter baumannii* par la galerie Api 20NE

Tableau XXII :Tableau de lecture des résultats de la galerie API 20 ^{NE}

TESTS	SUBSTRATS	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
			NEGATIF	POSITIF
NO ₃	nitrate de potassium	réduction des nitrates en nitrites	<u>NIT 1 + NIT 2 / 5 min</u>	
			incolore	rose-rouge
		réduction des nitrates en azote	<u>Zn / 5 min</u>	
			rose	incolore
TRP	tryptophane	formation d'indole	<u>JAMES / immédiat</u>	
			incolore vert pâle / jaune	rose
<u>GLU</u>	glucose	fermentation	bleu à vert	jaune
<u>ADH</u>	arginine	arginine dihydrolase	jaune	orange / rose / rouge
<u>URE</u>	urée	uréase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine	hydrolyse (β -glucosidase)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (à l'encre de chine)	hydrolyse (protéase)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	p-nitrophényl- β -D- galactopyranoside	β -galactosidase	incolore	jaune
<u>GLU</u>	glucose	assimilation	transparence	trouble
<u>ARA</u>	arabinose	assimilation	transparence	trouble
<u>MNE</u>	mannose	assimilation	transparence	trouble
<u>MAN</u>	mannitol	assimilation	transparence	trouble
<u>NAG</u>	N-acétyl-glucosamine	assimilation	transparence	trouble
<u>MAL</u>	maltose	assimilation	transparence	trouble
<u>GNT</u>	gluconate	assimilation	transparence	trouble
<u>CAP</u>	caprate	assimilation	transparence	trouble
<u>ADI</u>	adipate	assimilation	transparence	trouble
<u>MLT</u>	malate	assimilation	transparence	trouble
<u>CIT</u>	citrate	assimilation	transparence	trouble
<u>PAC</u>	phényl-acétate	assimilation	transparence	trouble

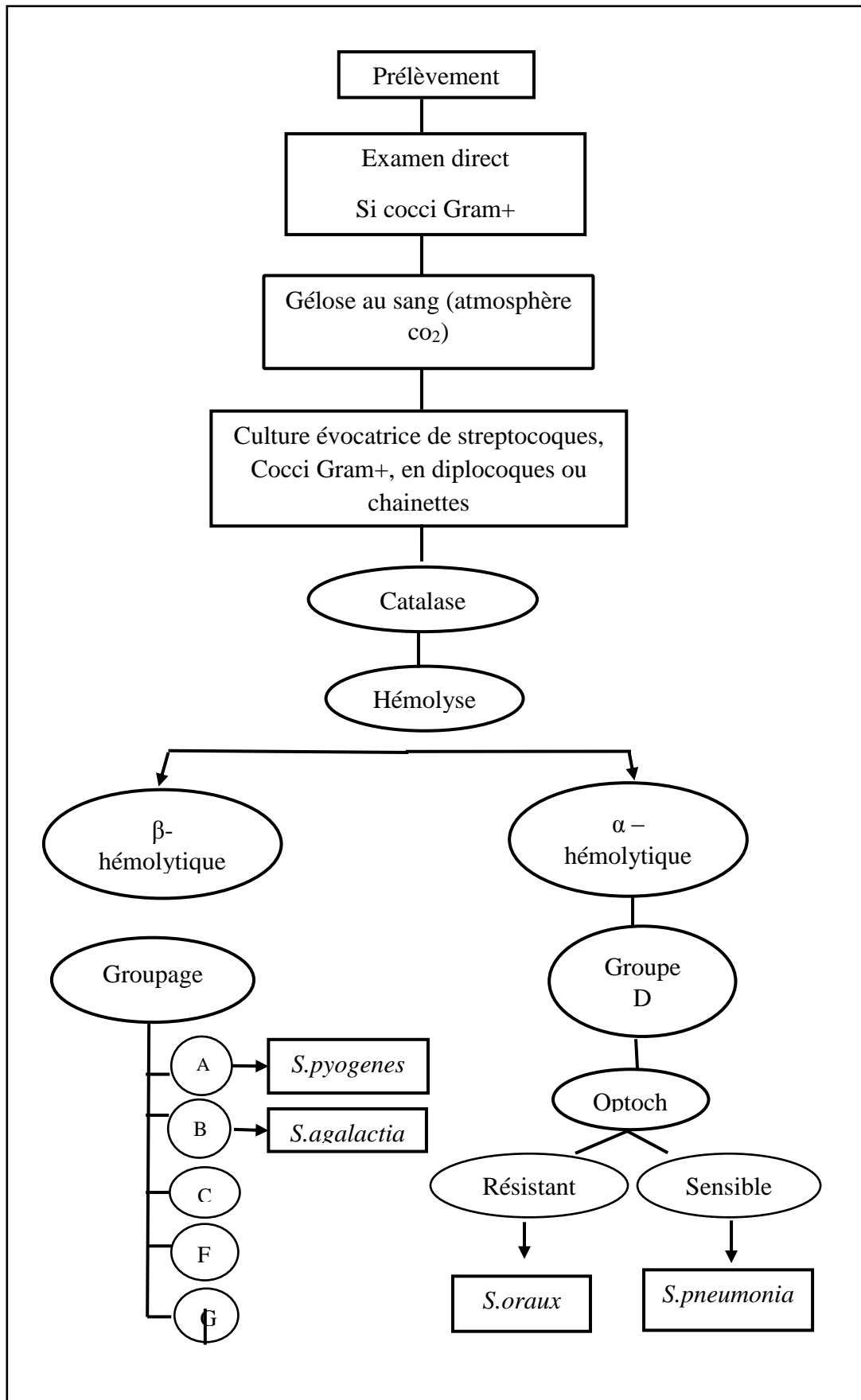


Figure 38. Démarche diagnostique d'une infection à streptocoque

❖ Groupage des streptocoques β -hémolytiques

1. PRÉPARATION DES EXTRAITS													
<p>gélose → 1 anse de culture (5 colonies) → 0,4 ml Enzyme extraction → 10 à 60 min. 37°C → Agiter le tube après 5 min. d'incubation</p>													
2. DISTRIBUTION LATEX	<p>Latex Groupe A Latex Groupe B</p> <p>Ajouter 1 goutte d'extrait (Pipette Pasteur) dans chacun des six cercles de la carte à réaction</p>												
3. DISTRIBUTION EXTRAIT	<p>Homogénéiser les suspensions latex. Distribuer 1 goutte (20 µl) de chaque suspension latex (flacon en position verticale) dans des cercles distincts sur une carte à réaction</p>												
4. MÉLANGE	<p>Mélanger, à l'aide d'un bâtonnet, le contenu de chaque cercle en l'étalant sur toute la surface du cercle à réaction. Utiliser un bâtonnet distinct pour chaque cercle.</p>												
5. AGITATION	<p>Agiter par rotation 1 minute maximum et lire (25 – 35 cm, sans loupe)</p>												
6. LECTURE	<table border="0"> <thead> <tr> <th>Latex Groupe A</th> <th>Latex Groupe B</th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>+</td> <td>-</td> <td>Strep. Groupe A</td> </tr> <tr> <td>-</td> <td>-</td> <td>Négatif</td> </tr> <tr> <td>+</td> <td>+</td> <td>Non spécifique</td> </tr> </tbody> </table>	Latex Groupe A	Latex Groupe B		+	-	Strep. Groupe A	-	-	Négatif	+	+	Non spécifique
Latex Groupe A	Latex Groupe B												
+	-	Strep. Groupe A											
-	-	Négatif											
+	+	Non spécifique											

Figure 40. Etape d'identification des streptocoques beta hemolytique par STRAPTEX

Annexe II

Tableau XXIII: les densités optique du dosage des flavonoides des extraits chloroformique et methanolique des feuilles et fleurs d'*Inula viscosa*

Densité Optique				
	E/MeoH Feuilles	E/MeoH Feurs	E/CHLORO Feuilles	E/CHLORO Fleurs
Moyenne	1,130	0,894	0,349	0,268
Ecart type	0,002	0,005	0,010	0,011

Tableau XXIV : les densités optique du dosage des polyphénols des extraits chloroformique et methanolique des feuilles et fleurs d'*Inula viscosa*

Densité Optique				
	E/MeoH Feuilles	E/MeoH Feurs	E/CHLORO Feuilles	E/CHLORO Fleurs
Moyenne	2,26	3,45	0,815	0,865
Ecart type	0,01	0,35	0,005	0,035

Tableau XXV :La gamme d'étalonnage de l'acide gallique

Concentration en mg/ml	0.2	0.1	0.05	0.0025
Absorbance à 765 nm	3.80	3.50	3.10	2.90

Tableau XXVI : Valeurs moyennes des diamètres des zones d'inhibition des différents extraits des feuilles et fleurs d'*Inula viscosa*

		Feuilles			Fleurs		
		Moyenne ± Ecart type			Moyenne ± Ecart type		
DOSES		200	100	50	200	100	50
Staphylococcus aureus (Pus)	E	19,33	17,33	15,33±	17,66	16	14,33±
	M	±0,57	±1,15	0,57	±1,52	±1	0,57
	E	16,66	15,33	11,33±	15,33	11	10,66±
	C	±1,15	±0,57	0,57	±0,57	±1	0,57
	E	16,33	15,33	10,66±	11,33	11	9,66±
	H	±0,57	±0,57	1,52	±0,57	±1	0,57
Staphylococcus saprophyticus (Urine)	E	12,33	10,33	11,66±	12	11,66	10,66±
	M	±0,57	±0,57	0,57	±1	±1,52	0,57
	E	14,66	12,66	11,66±	12,66	11,66	10±
	C	±0,57	±0,57	0,57	±0,57	±0,57	1
	E	12,33	12	11,33±	11,33	12,33	11,33
	H	±0,57	±0	0,57	±1,15	±0,57	±0,57
Streptococcus pyogenes ()	EM	15,66	14,66	11,33±	15,33	11,33	9,66
		±0,57	±0,57	0,57	±0,57	±1,52	±0,57
	EC	13,66	13	8,66±	10,66	9,66	8
		±1,15	±1	0,57	±0,57	±0,57	±1
	EH	11,33	11	8±	12,66	11	10
		±1,52	±1	1	±0,57	±1	±1
Streptococcus agalactiae	E	12,66	10,33	10±	12,33	9,66	8,33
	M	±0,57	±0,57	1	±0,57	±0,57	±0,57
	E	11	10,66	11,66±	11,66	9,66	7,33
	C	±1	±0,57	0,57	±0,57	±0,57	±0,57
	E	11	10,33	8,66±	11,66	10,66	7,33
	H	±1	±0,57	0,57	±1,52	±0,57	±0,57
Streptococcus pneumoniae (LCR)	E	16,33	15	12±	14,33	12,66	11
	M	±0,57	±1	1	±0,57	±0,57	±1
	E	12,66	11	10,33±	12,66	12	8,66
	C	±0,57	±1	0,57	±0,57	±0,57	±0,57

						1	
	E H	10,66 ±0,57	11 ±1	10,66± 0,57	10,33 ±0,57	11 ± 1	9,66 ±1,52
Enterococcus spp.	E M	11,66 ±0,57	10,33 ±0,57	9,66± 1,15	11 ±1	9,66 ± 0,57	9 ±1
	E C	10,66 ±1,15	9,66 ±0,57	8,33± 0,57	10,33 ±0,57	10 ± 1	9 ±1
	E H	10,33 ±0,57	9,33 ±0,57	8,33± 0,57	10 ±0	8,33 ± 0,57	7,33 ±0,57
Listeria monocytogene s (LCR)	E M	10,33 ±0,57	9,33 ±0,57	8,33± 0,57	10,66 ±0,57	8,33 ± 0,57	7,33 ±0,57
	E C	11,33 ±0,57	10,66 ±0,57	9,33± 0,57	10,33 ±0,57	8,66 ± 0,57	7,33 ±0,57
	E H	11,33 ±0,57	10,33 ±0,57	9± 1	11,66 ±0,57	9,66 ± 0,57	7,66 ±0,57
S.aureus ATCC 43300	E M	16,66 ±0,57	15,33 ±0,57	11,33± 1,15	14,33 ±0,57	13,66 ± 0,57	9 ±1
	E C	16 ±1	15,66 ±0,57	11,33± 1,15	12,66 ±0,57	13,33 ± 0,57	12 ±1
	E H	15,66 ±0,57	14,66 ±0,57	13± 1	14,33 ±0,57	13,66 ± 1,15	11,66 ±0,57
Bacillus subtilis ATCC 6633	E M	19 ±1	17,33 ±0,57	16,33± 0,57	15,66 ±0,57	14,66 ± 0,57	13,33 ±0,57
	E C	18,33 ±0,57	17,66 ±0,57	15,66± 0,57	15,66 ±0,57	14,66 ± 0,57	12,66 ±0,57
	E H	15,66 ±0,57	14,66 ±0,57	11,66± 0,57	13,66 ±0,57	12,66 ± 0,57	9,66 ±0,57

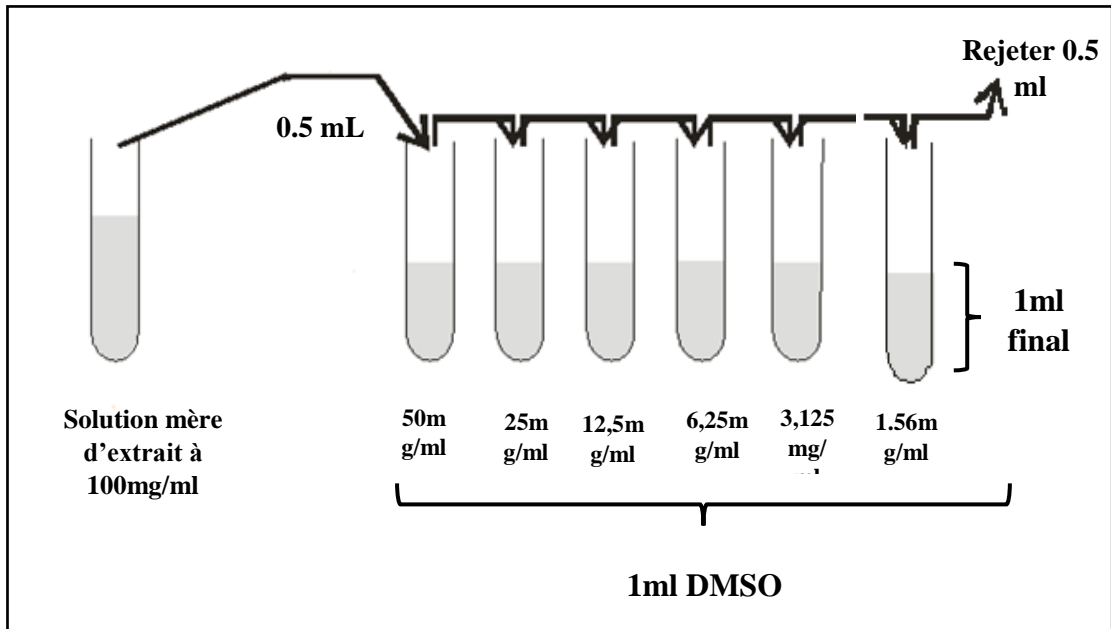
Tableau XXVII : Valeurs moyennes des diamètres des zones d'inhibition des différents extraits des feuilles et fleurs d'*Inula viscosa*

		Feuilles			Fleurs		
		Moyenne ± Ecart type			Moyenne ± Ecart type		
DOSES		200	100	50	200	100	50
<i>Acinetobacter Baumanii</i> BLSE+ (prélèvement distal protégé)	E	28.66 ± 0.88	14.66 ± 0.44	12.66 ± 0.44	26.66 ± 0.88	14 ± 0.66	12.66 ± 0.44
	M						
	C	10.33 ± 1	11 ± 0.66	7.66 ± 0.88	9.66 ± 0.88	9.66 ± 1	6 ± 3
<i>Escherichia coli</i> BLSE+ (urine)	E	10.66 ± 0.44	8.33 ± 0.44	8 ± 0.66	10.66 ± 0.44	9.33 ± 0.8	8.66 ± 1
	M						
	H	12 ± 0	11 ± 0.66	10.33 ± 0.44	12 ± 0.66	10.66 ± 0.5	10.66 ± 0.44
<i>Klebsiella Pneumoniae</i> (sang)	E	11.33 ± 0.44	11.33 ± 0.88	10 ± 0.66	12 ± 0.66	10 ± 0.6	9.66 ± 0.4
	M						
	H	10.66 ± 0.44	9.6 ± 1.5	10 ± 0.66	9 ± 0.66	9.66 ± 0.4	7.66 ± 0.4
<i>Neisseria Meningitidis</i> W135 (LCR)	E	9.33 ± 0.66	8.66 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	M						
	C	9 ± 0.66	9.33 ± 0.4	5.33 ± 3	7.66 ± 0.44	2.33 ± 3	2.33 ± 3
<i>Serratia liquificans</i> (collection abcedée au niveau du pied gauche drainé en orthopedie)	E	10 ± 0.66	9.66 ± 0.4	8.33 ± 0.4	7.33 ± 0.44	2.66 ± 3	0 ± 0
	M						
	H	12.33 ± 0.4	10.33 ± 0.44	10 ± 0.44	10 ± 0.6	10.33 ± 0.4	9.66 ± 0.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PDP)	E	10.33	9.33 ± 0.4	9.33 ± 0.4	10 ± 0	9.66 ± 0.4	9.33 ± 0.4
	M						
	H	10.66 ± 0.4	10.33 ± 0.4	9.33 ± 0.4	9.33 ± 0.4	7.66 ± 0.8	5.33 ± 1
<i>Serratia liquificans</i> (collection abcedée au niveau du pied gauche drainé en orthopedie)	E	10.33 ± 1	10.66 ± 0.4	9 ± 0.6	10.66 ± 0.4	9.66 ± 0.4	8 ± 0
	M						
	C	10.33 ± 1	10.66 ± 1	9 ± 0.6	11.66 ± 0.4	10.33 ± 0.4	7.33 ± 0.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PDP)	E	10.33 ± 0.4	9 ± 0	9 ± 0.6	8.66 ± 0.4	7.66 ± 0.4	7.33 ± 0.4
	M						
	H	11.33 ± 0.4	9.33 ± 0.4	8.66 ± 0.4	11.33 ± 0.4	8 ± 0.66	7.33 ± 0.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PDP)	E	9.33 ± 0.4	9.66 ± 0.8	9.33 ± 0.8	9.33 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0
	M						
	C						

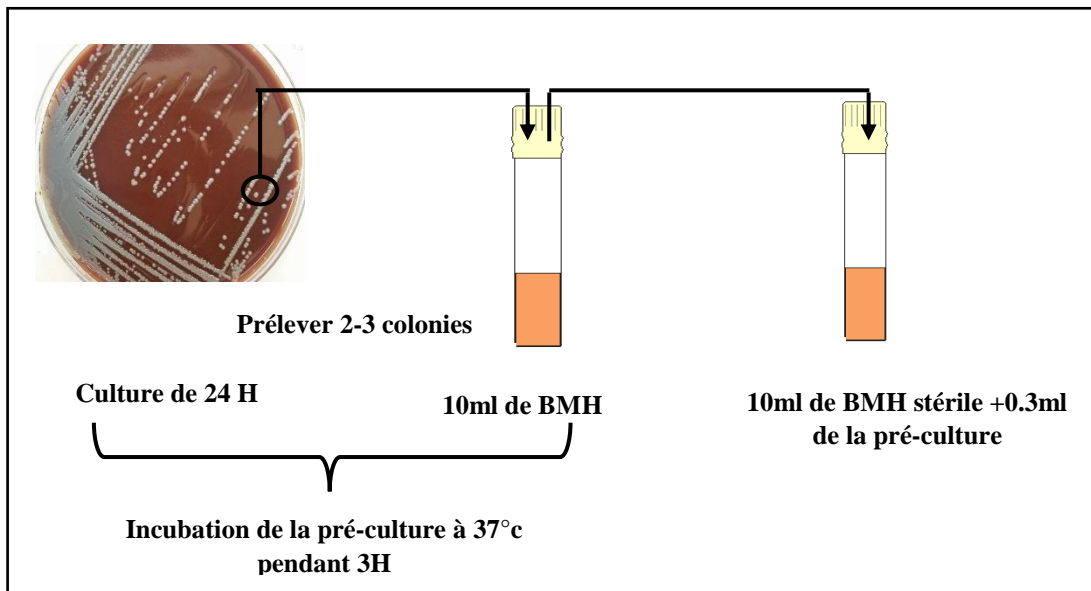
	E H	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
<i>Providencia rettgeri</i> (liquide pleural)	E M	14.66 ± 0.4	11.33 ± 0.4	9.66 ± 0.4	13 ± 0.6	11.33 ± 0.8	7.33 ± 0.4
	E C	15.33 ± 0.4	11.33 ± 0.4	9.33 ± 0.8	14 ± 1	9 ± 0.6	0 ± 0
	E H	12.33 ± 0.4	11.33 ± 0.4	0 ± 0	10.66 ± 0.4	10.33 ± 0.4	0 ± 0
<i>Salmonella spp.</i> (selles)	E M	11.66 ± 0.4	10.33 ± 0.4	9 ± 0	10.33 ± 1	9 ± 0.6	10 ± 0.6
	E C	10.33 ± 0.4	10 ± 0.6	8.33 ± 0.4	10.66 ± 0.4	9.33 ± 0.4	8.33 ± 0.44
	E H	11 ± 0.6	10 ± 0.6	7.66 ± 0.4	11.66 ± 0.4	8.33 ± 0.4	8 ± 0
<i>Enterobacter cloacae</i> (urine)	E M	11 0.4	10.66 0.4	0 ± 0	12 ± 0.6	9.33 ± 0.4	0 ± 0
	E C	10.33 ± 0.4	9 ± 0	8.33 ± 0.4	10.33 ± 0.4	9 ± 0	8.33 ± 0.4
	E H	10.33 ± 0.4	7.66 ± 0.4	0 ± 0	10.33 ± 0.8	7.66 ± 0.4	0 ± 0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	E M	12.66 ± 0.4	12 ± 0	8 ± 0.6	11 ± 0.6	9.33 ± 0.4	7.33 ± 0.4
	E C	10.66 ± 0.4	9.33 ± 0.4	8.66 ± 0.4	11 ± 0.6	9.66 ± 1	9.66 ± 0.8
	E H	10.66 ± 0.4	6.66 ± 2	9 ± 0	10 ± 0.4	8.33 ± 0.4	0 ± 0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	E M	11.33 ± 0.8	11 ± 0.6	10.33 ± 1	11 ± 0	10.33 ± 0.4	10 ± 0.66
	E C	10.66 ± 1	11 ± 0.6	9.66 ± 0.4	10 ± 1	8.66 ± 0.4	8.66 ± 0.4
	E H	11.66 ± 0.4	11 ± 0.6	9.66 ± 0.4	9.33 ± 0.4	8.66 ± 0.4	8.33 ± 0.4

❖ **Détermination des paramètres antibactériens CMI et CMB**

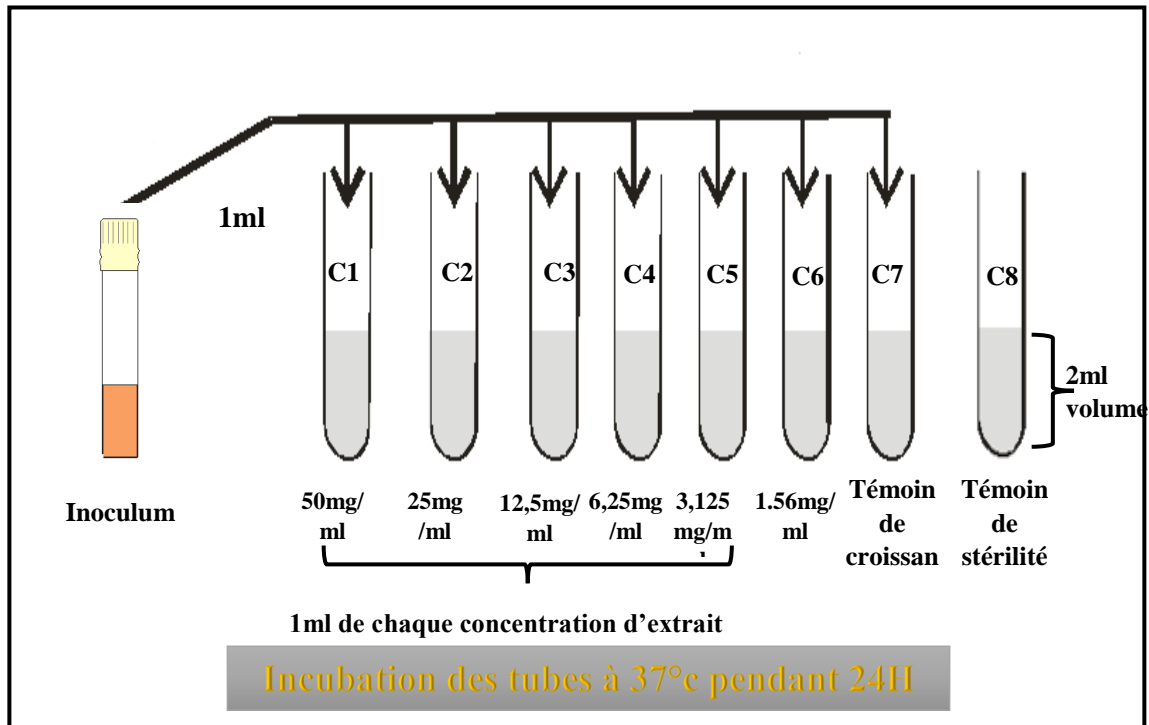
1) Préparation de la gamme de concentration des différents extraits



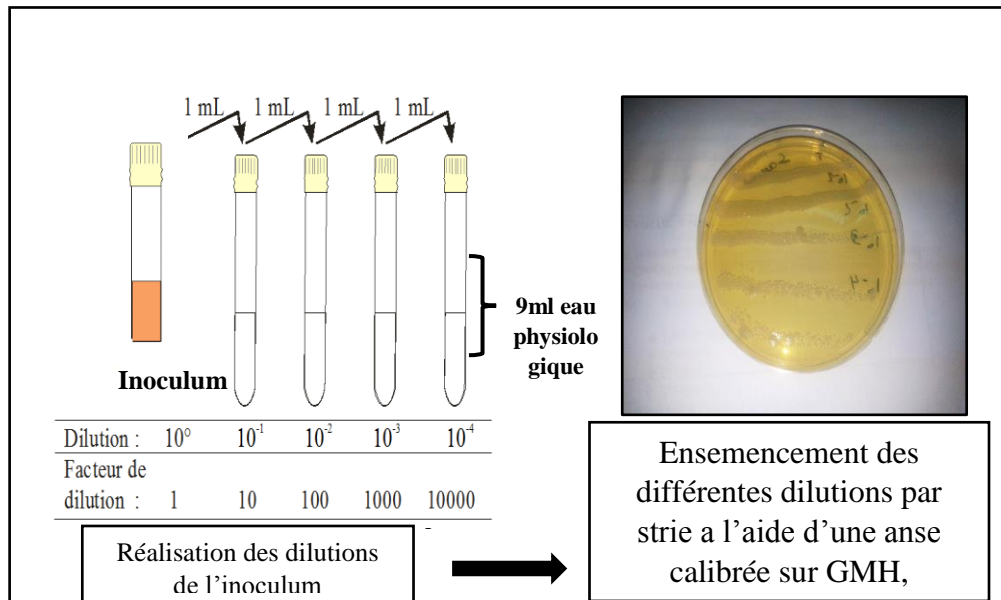
2) Préparation de l'inoculum



3) Ensemencement de chaque tube



4) Numération



Détermination de la CMI et CMB

