

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

Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et des Organismes
Mémoire de Fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de
Master en Science de la Nature et de la Vie
Option : Phytothérapie et Santé

THEME

Etude de la sensibilité des bactéries isolées cliniquement vis à vis des huiles essentielles de l'armoise blanchée *Artémisia herba alba* récoltée dans la région de Djelfa

Présentéepar: Soutenue le : 21/12/2017

Mme : BOUDELLA lamia

Jurry :

Mme : Benmanssour N. MCB USB BLIDA Promotrice

Mme :Ghenai MCB USB BLIDA Examinatrice

Mme :Maria stella MCB USB BLIDA Présidente

Promotion : 2016 -2017



Dédicace

*Je dédie ce Modest travail a tout ceux qui mont aider de loin ou de
prêt à le réaliser.*

A mes enfants bien aimés Chérif, Ines et mon chouchou Anes

LAMIA

Remerciement

Avant tout, nous remercions le bon dieu le tout puissant de m'avoir donnée le courage et la patience durant l'élaboration de ce travail.

Il me est difficile d'exprimer en quelques mots tout ce que je dois à ma promotrice madame BENMANSOUR nabahet, pour le climat fraternel qu'elle a su créer dans nos relations de travail. Je tiens à présenter mes vifs et sincères remerciements de m'avoir accueillie, dirigé et conseillé durant la réalisation de ce projet.

Je tiens à remercier également les membres du jury, Mme Ghenai, Mme Maria Stella et l'ensemble du personnel administratif de l'hôpital de KOLEA, laboratoire de microbiologie, pour l'accueil et l'ambiance amicale qu'ils m'ont réservé durant mon stage, tout particulièrement au Dr MECHRARA.

Je n'oublierais pas de remercier l'ensemble des enseignants de la faculté de Biologie de l'université de SAAD DAHLEB qui ont été toujours disponibles et à l'écoute de tous les étudiants.

Tables de matieres

Introduction générale	1
1^{ère} partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : -<i>Artémisia herba alba</i>	3
I. <i>Artémisia herba alba</i>	3
I.1. Répartition géographique	3
I.2. Classification botanique	3
I.3. Description botanique	4
I. 4. Caractéristiques écologiques	4
I.5. Composition chimique	5
I.6. Utilisation d' <i>Artémisia herba alba</i>	6
Chapitre II : Bacilles à Gram négatif et Cocci à Gram positif	9
II.1. Bacilles à Gram négatif	9
II.1.1. Entérobactéries	9
II.1.2. Bacilles à gram négatif non fermentaires	13
II.1.2.1- Genre <i>Pseudomonas</i> sp	13
II-1-2-2- Genre <i>Acinetobacter</i> ssp	14
II-2- Cocci à Gram positif	16
II-2-1- <i>Staphylococcus aureus</i>	16
II-2-2- <i>Enterococcus faecium</i>	18
II-3- Antibiotiques	19
II-3-1- Antibiotiques naturels et synthétiques	19
II-3-2- Cibles bactériennes des antibiotiques	20
Chapitre III : Activité biologique des plantes médicinales	23
III-1- Introduction	23
III-2- Activités antimicrobiennes	23
III-3--Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne	31
III-3--1. Aromatogramme	31
III-3--2. Méthode de diffusion en puits	32
III-3--3. Méthode de dilution	32
III-3--4. Méthode de micro-atmosphère	33
III-3--5-Détermination de l'effet bactériostatique ou bactéricide	33
III-3--6-Méthodes de détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice	34
2^{ème} partie : Partie pratique	
Chapitre I : Matériel et Méthodes	
I-1-Matériel	36
I-1-1-Matériel non biologique : (voir Annexe)	36
I-1-2-Matériel biologique :	36
A-Matériel végétal	36
B-Bactéries:	36
I-2- Méthodes	37
I-2-1-Récolte	37

A- Prélèvement des échantillons	37
I-2-2-Extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation	37
A- Détermination de La quantité du matériel végétal nécessaire pour l'extraction	38
I-2-3- Caractérisation des huiles essentielles	39
A-Détermination des indices physiques.	39
B-Détermination des indices chimiques	40
I-2-4-Examen Cytobactériologique	41
B- Méthodologie de Diagnostic	42
B-1- Étude cytotbactériologique des urines	42
B-2- Examen bactériologique des selles (Coproculture)	49
B--3- Etude cytotbactériologique du pus	50
I-2-5- Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles en milieu solide	50
A-Méthode de Microatmosphère	50
B- méthode de diffusion par disque	51
C-Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	52
Chapitre II : Résultats et discussions	53
II-1-Rendement	53
A-Influence de la masse de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle d'Artemisia herba alba	53
B-Influence de la durée d'extraction sur le rendement	54
II-2-Indices physico-chimiques	54
II-3-Examen cytotbactériologique	56
II-4-Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles en milieu solide	61
II-4--1-Méthode Micro atmosphère	61
II-4--2-Méthode d'Antibiose	61
II-4-3-Méthode CMI	64
Conclusion générale et Perspectives	66
Références Bibliographiques	67
Annexe	

Listes des abréviations

AHA : Artémisia herba alba

ATCC : American Type culture collection

ATB : antibiotique

CHU : centre hospitalier universitaire

CMI : concentration minimale inhibitrice

DI : Diamètre d'inhibition

ECBU : Examen cellulaire et bactériologique des urines

HE : huile essentielle

MA : Méthode d'antibiose

MM : méthode de micro atmosphère

OMS : organisation mondiale de la santé

Rdt : Rendement

Résumé

Ce travail vise l'isolement et l'identification des bactéries provenant des prélèvements urinaires et des selles et l'étude le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* récoltée dans la région de Djelfa

261 prélèvements, ont été isolées de différents produits biologiques (Urines, selles, pus) prélevés de patients hospitalisés et externes. Elles ont été identifiées par les méthodes conventionnelles. Sur 20.45% prélèvements positifs 77% de bacilles à Gram négatif et 23% de Gram positif ont été identifiés. Ils se répartissent en : 54% souches d'entérobactéries, 14% d'*Acinetobacter.baumannii*, 19% de *Protéus.aeruginosa*, 07% de *Staphylococcus aureus*, 03% de SARM, 02% de *Staphylococcus à coagulase négative* et 01% *Enterococcus faecium*.

Parmi les 54% souches d'entérobactéries, la dominance a été attribuée à l'*Escherichia coli* (52%), suivie par *Klebsiella pneumoniae* (10%), *Klebsiella terrigena* (10%), *Proteus mirabilis* (07%), *Proteus vulgaris* (07%), *Salmonella typhimurium* (06%), *Shigella* sp (02%) *Enterobacter* sp (01%), *Enterobacter cloacae* (01%) et *Citrobacter freundii* (03%)

L'évaluation de l'effet antibactérien de l'huile essentielle a été déterminée par 03 méthodes : Méthode de Micro atmosphère, Méthode d'Antibiose et Méthode CMI
La méthode de Micro atmosphère a révélé que L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* présentait une forte activité antibactérienne contre les 20 souches bactériennes d'origine clinique .Seuls *Pseudomonas.aeruginosa* et *Staphylocoque. typhimurium* sont avérés résistants.

La Méthode d'Antibiose a montré que les bactéries à Gram positif, *Staphylococcus aureus* (31.33 mm), le SARM (30mm), *Entérobacter faecalis* ATCC 29212 (30mm), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (28,33mm), le *staphylocoque à coagulase négative* (28 mm) étaient les souches les plus sensibles à l'huile essentielle, suivie par *Entérocoque. faecium* (21,66mm).

La méthode CMI, nous montre que notre huile essentielle possède un effet antibactérien très important. Le maximum d'action est noté sur les bactéries Gram+ est surtout sur *Les Staphylocoques aureus* (son CMI est plus faible par rapport à celles des autres bactéries soit 8.75 ug/ml).

Mots clés : *Artemisia herba alba*, huiles essentielles, activités antibactériennes

ملخص

هذا العمل هو عزل وتعريف البكتيريا من عينات البول والبراز ودراسة النفط المضادة للبكتيريا للزيوت الأساسية لنباتة *Artémisia herba alba* التي تم جمعها في منطقة الجلفة

تم عزل 261 عينة من منتجات بيولوجية مختلفة (البول ، البراز ، الفيج) مأخوذة من المرضى الداخليين والمرضى الخارجيين. وقد تم تحديدهم بالطرق التقليدية. من أصل 20.45 ٪ من العينات الإيجابية، تم تحديد 77 ٪ من العصيات Gram- و 23 ٪ من Gram+. وهي مقسمة إلى: 54 ٪ من سلالات البكتيريا المعوية ، 14

، *Acinetobacter.baumannii* ٪19 إلى *deProtéus.aeruginosa* ، *deStaphylococcus aureus* ٪07 ، *CitrobacterFrundii* ٪03

و 02 ٪ من *Staphylococcus a coagulase négative* و 01 ٪ *Enterococcusfaecium*.

ومن بين 54 ٪ من سلالات المعوية، و الهيمنة تعود إلى *Ecoli* (52 ٪)، تليها *Klepsiellapneumoniae* (10 ٪)،

(10 ٪) *Klebsiellaterrigena* ، (07 ٪) *Proteus mirabilis* ، (07 ٪) *Salmonella* ،

(01 ٪) *EntérobacterCloacae* ، (02 ٪) *Shigellasp* (01 ٪) *thyphimurium*

و (03) *Citrobacterfreundii*

تم تحديد تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي بواسطة 03 طرق : طريقة الغلاف الجوي الجزئي وطريقة المضاد الحيوي وطريقة CMI

بينت طريقة جو مايكرو أن الزيوت الأساسية ل *Artemisa herba alba* لها نشاط مضاد للجراثيم قوي ضد 20 سلالات بكتيرية من أصل عيادي *Pseudomonas aeruginosa* . *Staphylocoque Typhirium* . وقد أثبتت التيقنة أن تكون مقاومة.

أظهرت طريقة المضاد الحيوي أن البكتيريا Gram+ ، المكورات العنقودية . (*Staphylococcus*) الذهبية (31.33 ملم)،

Bacillus.subtilis ATCC 6633 و (30mm) *MRSA* و (30mm) *Entérobacter.faecalis* ATCC 29212 و (30mm) *Bacillus.subtilis* ATCC 6633

(28)، كانت العنقوديات المخثرة السلبية (28 ملم) السلالات الأكثر حساسية ل من الضروري النفط ، تليها

(21) *Enterococcus.faecium* (66mm).

توضح لنا طريقة CMI أن الزيت الاساسى له تأثير مضاد للبكتيريا مهم جداً. تم ملاحظة الحد الأقصى من الإجراءات على بكتيريا

Gram + بشكل أساسي على Gram+ خاصة *Staphylococcus aureus*

(تكون MIC أقل مقارنة مع البكتيريا الأخرى أو

8.75 ميكروغرام / مل)

الكلمات الرئيسية: ارتمزبا اربا الباء، والزيوت الأساسية ، والأنشطة المضادة للبكتيريا

summary

This work aims at the isolation and identification of bacteria from urinary samples and stool and the study the antibacterial power of the essential oil of *Artémisia herba alba* harvested in the region of Djelfa

261 samples were isolated from différent biological products (urine, stool, pus) taken from inpatients and outpatients. They have been identified by conventional methods. Out of 20.45% positive samples, 77% of Gram-negative bacilli and 23% of Gram-positive were identified. They are divided into: 54% enterobacterial strains, 14

Acinetobacter baumannii to 19% de *Protéus aeruginosa*, 07% de *Staphylococcus aureus*, 03% *DISARM*,

02% of Coagulase-negative *Staphylococcus* and 01% *Enterococcus faecium*.

Of the 54% enterobacterial strains, dominance was attributed to *Escherichia coli* (52%), followed by *Klebsiella pneumoniae* (10%), *Klebsiella terrigena* (10%), *Proteus mirabilis* (07%), *Proteus vulgaris* (07%), *Salmonella typhimurium* (06%), *Shigella* sp (02%) *Enterobacter* sp (01%), *Enterobacter cloacae* (01%) and *Citrobacter freundii* (03%)

The evaluation of the antibacterial effect of the essential oil was determined by 03 methods: Micro Atmosphere Method, Antibiose Method and CMI Method

The Micro Atmosphere method revealed that the essential oil of *Artemisia herba alba* had a strong antibacterial activity against the 20 bacterial strains of clinical origin.

Only *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus typhimurium* have proved resistant.

The Antibiotic Method showed that Gram-positive bacteria, *Staphylococcus aureus* (31.33 mm), MRSA (30mm), *Enterobacter faecalis* ATCC 29212 (30mm), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (28.33mm), coagulase-negative *staphylococcus* (28mm) were the Most sensitive strains to essential oil, followed by *Enterococcus faecium* (21,66mm).

The CMI method shows us that Our essential oil has a very important antibacterial effect. The maximum action is noted on Gram + bacteria is mainly on *Staphylococcus aureus* (its MIC is lower compared to those of other bacteria or

8.75 µg / ml).

Key words: *Artemisia herba alba*, essential oils, antibacterial activities

L'Organisation Mondiale de la Santé estime qu'un taux de 50% de la population Mondiale fait appel aux médecines traditionnelles(OMS ;2002).

OMS encourage les programmes de recherche portant sur l'identification et la culture des plantes médicinales ainsi que l'évaluation de la qualité et de l'efficacité de ces remèdes par des techniques scientifiques modernes.

Dans ce domaine, l'Algérie recèle d'importantes potentialités en matière de plantes aromatiques et médicinales et ce en raison de la diversité de son climat et de la nature de ses sols.

Dans les régions du Sud de l'Algérie Biskra ,Tamanrasset et Béchar,, certaines plantes médicinales couvrent à perte de vue les régions steppiques. Les gains que pourraient procurer la valorisation de ces plantes sont énormes mais leur industrielle n'a pas été entreprise jusqu'à présent (**Muthu et al ;2006**) .

Pourtant, l'industrie pharmaceutique est à la recherche de composés biologiques intéressants, extraits à partir de ces plantes et notamment les huiles essentielles, qui pourraient compléter ou remplacer les produits chimiques déjà utilisés(**Fournier,1977 et Leclec,1983**).

Parmi les plantes aromatiques douées de propriétés curatives potentiellement intéressantes qui occupent une grande place en Algérie, on peut citer, le Romarin (*Rosmarinus officinalis L*), la Lavande (*Lavandula spicata*), le thym vulgaire *Thymus vulgaris L*, la Menthe poivrée (*Mentha piperita L*), l'Origan commun (*Origanum vulgare*), l'Anis vert (*Pimpinella anisum*) et l'Armoise blanche (*Artemisia herba alba*). Cette dernière est utilisée contre de nombreuses pathologies: aménorrhées (retard du cycle menstruel), syndromes neurologiques, troubles hépatiques et gastriques et certains empoisonnement (**Fournier, 1977 et Leclec, 1983**).

Toutefois, peu de travaux scientifiques en Algérie sont consacrés à l'étude des propriétés biologiques de l'Armoise blanche à partir d'extraits des différents organes.

Pour cela, nous nous sommes proposé de contribuer à la connaissance de certaines de ces propriétés en étudiant en particulier les aptitudes de cette plante à inhiber la croissance de quelques germes pathogènes. Pour cela, nous avons focalisé notre étude sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites des parties aériennes de l'Armoise provenant de la région de Djelfa.

Ainsi ce manuscrit s'articule autour de deux parties :

La première partie présentera une synthèse bibliographique sur les généralités de *l'Artemisiaherba alba*, sur les Bacilles à Gram négatif et Cocci à Gram positif et sur luttte des plantes médicinales contre les bactéries pathogènes

Dans la seconde partie, nous détaillerons l'outil méthodologique utilisé :

- ✓ Extraction des huiles essentielles par la méthode Clevenger
- ✓ Isolement et identification des bactéries d'origine clinique
- ✓ Et évaluation de l'activité antibactérienne vis à vis des souches bactériennes isolées cliniquement

Et on exposera nos résultats de notre travail et leur Discussion.

Artémisia herba alba:

I-1 Répartition géographique :

L'espèce *Artémisia herba alba* est un arbuste médicinal et aromatique spontané qui pousse dans les zones arides du Bassin méditerranéen, s'étendant dans le nord-ouest Himalaya. Cette plante est abondante dans la péninsule ibérique et atteint plus grande population dans le centre de l'Espagne qui s'étend sur l'est, le sud et le sud Espagne (**Abou el Hamed et al.,2010**).

L'*Artémisia herba alba* affectionne les climats secs et chauds et forme des peuplements importants dans les zones désertiques (Laghouat, Ghardaïa, Bechar,...). Elle est très répandue sur les Hauts plateaux (**Trabut., 1988**), et dans le Sahara septentrional, se raréfiant plus au sud ; Hoggar et Tassili (**Baba Aissa., 2000**), qui occupent un espace de l'ordre de 9% (6 millions d'hectares) de la superficie totale de l'Algérie, caractérisé par un climat semi aride (**Trabut.,1988**).

I-2-Classification botanique :

Le genre *Artémisia* est représenté par 4 espèces dont trois se localisent dans le Sahara: *Artémisia-compretis L*, *Artémisia herba alba* et *Artémisia judaïca L*, alors que la quatrième espèce *Artémisia arborescence* se retrouve généralement dans le Nord dupays.

Guignarard (1998), a classé l'*Artémisia herba alba* :

Règne :Planteae

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous classe :Astéridaea .

Ordre : Astérales.

Famille : Composées ou Astéracées

Sous famille : Radiées

Tribu :Anthemidea

Genre : *Artémisia*

Espèce : *Artémisia herba alba* Asso.

L'Armoise blanche est aussi appelée Absinthe ou Armoise (**Bielle., 1935**) . Elle est connue en Algérie sous les noms de: *Chih*, *Ifsi*, *Zezzare*, *Izri* et *armoise* (**Quezel et Santa., 1963**).

Quezel et al (1994) ont attribué une nouvelle nomination à l'Armoiseblanche:

Artémisia inculta.

I-3 Description botanique :

A. herba alba Asso, est une plante ligneuse, se présentant sous forme de buissons blancs laineux de 30 à 80 cm de hauteur (Barel et Ramendo., 1980). Elle pousse généralement en touffes de tailles réduites fragmentées par le piétinement des animaux et l'action érosive du vent (Aidoud., 1983).

La tige porte des expansions latérales des rameaux et des feuilles. Les feuilles sont de taille très réduite de 3 à 5 folioles par feuille, elles sont blanches, laineuses, courtes et généralement pubescentes argentées (Quezel et Santa., 1963) (Figure 1).

Les fleurs sont jaunes groupées en capitules. Le fruit est un akène indéhiscent ne contenant qu'une seule graine.



Figure 1: Photo originale d'une touffe d'*Artémisia herba alba*. (dans la région de Djelfa)

I-4-Caractéristiques écologiques :

A. herba alba constitue en général un ourlet autour de la zone alfatière et sa colonisation commence là où s'écoulent les eaux de ruissellement dans les ravineaux de pluie (Killian., 1948).

Les conditions écologiques de l'Armoise sont les suivantes (Aidoud., 1983 et Djibaïli., 1984):

- La plante d'*A. herba alba* est adaptée à la sécheresse. Cette adaptation se traduit par le polymorphisme des feuilles dont la taille est très variable. De plus, une organisation spéciale lui permet de limiter au maximum la transpiration. (Quezel et Santa, 1963)

- Bioclimat : principalement aride frais et semi-aride frais.

- Pluviosité : comprise entre 100 et 300 mm, en moyenne elle est égale à 220mm
- Altitude : comprise entre 400 et 1300 m moyenne, elle est égale à 1000
- Les sols se caractérisent par une diminution essentielle du taux de sable en corrélation avec une augmentation de limons et d'argiles. (Trabut, 1988).

I-5-Composition chimique :

Les études entreprises jusqu'à présent sur *A. herba alba* sont surtout d'ordre chimio-taxonomique. Elles concernent principalement la composition chimique des huiles essentielles. L'élucidation de la structure des lactones sesqui-terpéniques et des flavonoïdes qu'elle contient a été utilisée en vue d'une classification botanique.

Benjilali et al (1980), ont réalisé une étude qualitative par chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrophotométrie de masse (CPG/SM) de 48 échantillons d'*A. herba alba* provenant de 48 régions différentes du Maroc. Ils ont identifiés 16 composés terpéniques et 3 composés cétoniques : α -thuyone, β -thuyone et camphre. Les cétones représentant 60 à 80 % de l'huile essentielle. Leurs proportions relatives ont permis de classer les différents peuplements étudiés en quatre chémotypes : α -thuyone, β -thuyone, camphre et α -thuyone-camphre (**tableau 1**).

Tableau 1 : Constituants majeurs de quatre chemotypes d'*Artemisia herba alba* (Benjilali et al ; 1986).

Chemotypes à	Composition en %
α -thuyone	54 à 82 %
β -thuyone	43 à 73 %
Camphre	52 %
α -Thuyone-camphre	α -Thuyone : 25,7 à 36,8% camphre : 34 à 55 %

Par la suite **Benjilali et al (1982)**, ont étudié avec la même technique, 100 échantillons d'*A. herba alba* récoltée sur tout le territoire Marocain à des périodes de récolte différentes de l'année. Ils ont décrit 7 chémotypes caractérisés chacun par un ou deux composés majoritaires (**tableau 2**).

Tableau 2 : Constituants majeurs de sept chemotypes d'*Artemisia herba alba* (Benjilali et al., 1982).

Chemotypes à	Composition en %
α -Thuyone	54 à 82 %
β -Thuyone	43 à 73 %
Camphre	52 %
α -Thuyone-camphre	α -Thuyone : 25,7 à 36,8% camphre : 34 à 55 %
L'Acétate de chrysanthényle	38 à 70 %
α -Thuyone- β -Thuyone	28 à 34 %
<i>Davanone</i>	27 à 33 %

Segal et al (1987) ont étudié par la suite la composition chimique des huiles essentielles des feuilles et des tiges de 5 peuplements d'*A.herba alba* récoltés à des périodes différentes pendant 3 années consécutives dans le sud de la Palestine par CPG/SM et ont défini cinq nouveaux chemotypes: un type à cinéol-1,8, un type à monoterpènes irréguliers, un type à bornane, un type aux dérivés du pinane et un type à α et β -thuyone déjà décrit par Benjilali et al (1982) (Tableau 3):

I-6-Utilisation d'*Artémisia herba alba* :

Le pouvoir antiseptique, antibactérien, antifongique ou antiparasitaire d'*Artemisia herba alba* et de ses huiles essentielles leur a conféré une application dans de nombreux domaines en thérapeutique, en industrie agro-alimentaire et en cosmétologie (Kurita et Koike., 1982, Banquour., 1984 et Lattaoui.,1989).

I-6-1-Dans le domaine thérapeutique :

A.herba alba est utilisée en médecine traditionnelle depuis l'antiquité. Ses propriétés emménagogues incitent les femmes à l'utiliser pour provoquer les règles en cas de retards ou d'aménorrhées, elle est donc contre indiquée chez la femme enceinte. En Chine, elle est utilisée pour régulariser le cycle menstruel et stopper leurs douleurs (Fournier., 1977).

Tableau 3 ; Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*, (Segal et al., 1987).

Hydrocarbures mono-terpéniques	Hydrocarbures ses-qui-terpéniques
Santalina triène Artémisia- triène (SM) α -thuyene (SM, TR) β -thuyene (SM,TR) camphene (SM, IR,TR) P-cymène (SM, IR, TR) Myrcène (SM, IR) α -phellandrène (SM,TR) α -pinène (SM,TR) β -pinène sabinène (SM, IR, TR) α -terpinène (SM, TR) γ -terpinène (SM, TR) tricyclène (SM, TR)	Allo-aromadrène (SM,IR) δ -cadinène (SM,TR) β -caryophyllène (SM,TR) α -copaène (SM,TR) α -muurolène(SM) α -muurolène(SM) γ -muurolène(SM)
Alcools et Esters	Esters
Alcool amylique (SM) Artemisia alcool (SM) Santolina alcool (SM) Yomogi alcool (SM) Bornéol (SM, IR, TR) P-cymen-7-ol (SM) Linalool (SM, TR) Nérolidol (SM, TR) Trans-pinocarvéol (SM, TR) Isopinocarvéol (SM, TR) Terpin-1en-4-ol (SM, IR,TR) Trans-thujan-4-ol (SM) Ether 1,8-Cinéol	Acétate de bornyle (SM, IR, TR) Acétate de chrysanthényle (SM, IR, TR) Acétate de terpényle (SM, TR) Acétate de sabinyle (SM) Acétate de santolinyle (SM) Acétate de myrtényle (SM) Vinyl-2-pentenyl-4-acétate (SM) Triméthyl-1, 1,4-oxo-3- (SM) 3-hexen -4-yl acétate (SM) Méthyl-5-méthyliden-2-vinyl-(SM) Lyratyl propionate(SM) (Z)-lyratyl acétate(SM) (E)-lyratyl acetate(SM) Hydroxyl-3-triméthyl-1, 1, 4- (SM)
Aldéhydes et cétones	Divers
Camphre (SM, IR, TR) Carvone (SM) Carvotanacétone (SM) Chrysanthénone (SM, IR, TR) Cuminaldéhyde (SM, IR, TR) Davanone (SM, TR) Filifolone (SM, TR) Isocamphénone (SM) Isophorone (SM) Cis-jasmone (SM) Cis-méthyl-5-vinyl-5-tétrahydrofuryl-2-méthyl cétone (SM, IR) Trans-méthyl-5-vinyl-5-tétrahydrofuryl-2-méthyl cétone (SM, IR) Myrténal (SM) Nordavanone (SM, IR) Pinocarvone (SM) Pipéritone (SM, IR) α -thuyone (SM, IR, TR) β -thuyone (SM, IR, TR) verbénone (SM)	Méthyl-2-vinyl-2-tétrahydrofuryl-5-2-triméthyl-2,6,6-dihydro-2,6-pyrone-3 (SM) Methyl-4-hexen-5-olide (SM, IR) Methyl-pentèn-2-olide (SM, IR) Oxyde de caryophyllène (SM,TR)

Elle est aussi vermifuge d'où son utilisation contre les parasitoses intestinales et les troubles digestifs (**Belaïche., 1979**)

Ses propriétés toxiques et antispasmodiques la recommande dans les syndromes neurologiques et psychiatriques: (hypotension, syncope, épilepsie, dyspepsies), dans les affections du foie et de la vésicule biliaire (**Leclec., 1983**). Elle peut être employée comme apéritif, diurétique, stimulant de la digestion car elle est douée d'une propriété stomachique. En Chine, dans plusieurs pays Européens et en Algérie, elle est employée en usage externe dans le traitement des rhumatismes, de la goutte, des aphtes, des mycoses et contre les piqûres d'insectes et de scorpions (**Baba Aïssa.,1991**).

Toutefois, elle doit être utilisée avec beaucoup de prudence et à des faibles doses car des doses trop élevées peuvent causer des intoxications très graves voir mortelles (caractérisées par une hépato-néphrite à prédominance rénale accompagnée de phénomènes convulsifs) causés par certains composés cétoniques, α -thuyone, β -thuyone et camphre (**Valnet., 1984**)

I-6-2 Dans le domaine alimentaire:

Par ses caractères organoleptiques, *Artemisia herba alba* peut être utilisée pour aromatiser certaines boissons comme le café et le thé dans le Sud des pays du Maghreb. Toutefois, son emploi reste tout de même limité à cause de la toxicité des α et β thuyones contenus dans les huiles essentielles (**Aghaei et al., 2011, Zouari et al., 2010, Houari et Ferchichi., 2009**).

I-6-3 Dans le domaine cosmétique:

En parfumerie, les huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba* sont utilisées pour leur pouvoir antiseptique et aromatique. Elles servent à augmenter la durée de conservation des produits cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable (**Beylier-Manuel., 1976**).

Aussi, l'activité des huiles essentielles associées à celle d'autres agents antimicrobiens représente un terrain d'investigation intéressant pour la conservation des produits cosmétiques (**Bouhlal et al., 1989**).

II-1-Bacilles à Gram négatif

Les bacilles à Gram négatif, fréquemment isolées des laboratoires de bactériologie, occupent une place importante en pathologie humaine. Généralement, on les divise en deux grands groupes : les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires (**Liassine, 2000**).

Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections communautaires et infections nosocomiales notamment les infections urinaires, les gastro-entérites sévères, les infections respiratoires...etc. Les bacilles à Gram négatif non fermentaires (*Pseudomonas sp*, *Acinetobacter ssp*...etc), quant à eux, sont à l'origine des infections nosocomiales diverses notamment chez les immunodéprimés (VIH, leucémiques, cancéreux, greffés...)(**Gueye, 2007**).

II-1-1- Entérobactéries

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. La création de ce groupe a été proposée par **Rahn en 1937** qu'il dénomma enterobacteriaceae et dans lequel il rassembla les genres bactériens déjà décrits (tels que *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Shigella*) dans le genre unique *Enterobacter*. Les entérobactéries sont des *Eubactéries*, appartiennent à la division des *Proteobacteria*, la classe des *Gammaproteobacteria*, à l'ordre des Enterobacteriales et à la famille des Enterobacteriaceae.

44 genres sont regroupés en cinq tribus, d'après leurs propriétés fermentatives: *Escherichiae*, *Klebsielleae*, *Proteae*, *Yersinia* et *Erwiniae* (**Larpent, 2000**). Les genres les plus communément isolés en bactériologie clinique sont: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia* (**Morice, 2003**).

A- *Escherichia coli*

Isolée pour la première fois par *Escherich* en 1885, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (**Avril et al., 2000**). Elle représente l'espèce type de genre *Escherichia*. Appelée communément « colibacille » cette espèce possède des caractères biochimiques particuliers permettant de la différencier des espèces voisines. La production d'indole à partir de tryptophane, l'absence d'utilisation du citrate comme source de carbone et l'absence de production d'acétone (réaction de Voges- Proskauer négative) (**Joly et Reynaud, 2007**).

Escherichia coli se retrouve en abondance dans la flore commensale humaine, en particulier dans le tube digestif de l'homme qu'elle colonise dès les premières heures de la naissance. Elle constitue l'espèce dominante de la flore aérobie anaéro-tolérante (**Ahoyo et al., 2007; Bonacorsi et al., 2001**).

Les colibacilles, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Cependant ils possèdent un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes) (**CHU-PS, 2003**).

B- Shigella

Nommé *Shigella* en l'honneur du bactériologiste japonais Kiyoshi SHIGA qui a découvert le bacille de la dysenterie en 1897 (**Dufour, 2005**). Les *Shigella* sont des entérobactéries immobiles extrêmement proches d'*Escherichia coli* mais qui ne fermentent pas le lactose. Elles n'ont pas d'uréase et ne produisent pas de gaz. (**CHUPS, 2003**). Ce sont des parasites intestinaux rencontrés seulement chez l'homme, qui les élimine par ses selles et les disperse dans le milieu extérieur (sol, eau) où elles ne survivent pas longtemps (**Peiffer, 2000**).

Il existe 4 espèces, *Shigella dysenteriae* responsable de la dysenterie bacillaire, *Shigella flexneri*, *Shigella boydi* et *Shigella sonnei*. Ces bactéries envahissent la muqueuse colique, déclenchant des entérites inflammatoires fébriles dans le monde entier. La gravité de cette infection est liée à la déshydratation qu'elle provoque, nécessitant une antibiothérapie et une réhydratation d'urgence (**Berche, 2003**).

C- Salmonella

Kauffmann, le pionnier de l'analyse du genre *Salmonella*, avait individualisé sur la base de tests phénotypiques et de tests sérotypiques plusieurs sous-genres et de très nombreuses espèces de *Salmonella* (par exemple, *Salmonella typhi*, espèce responsable de la fièvre typhoïde) (**Weill, 2009**). Depuis 2005, une nouvelle nomenclature est en vigueur sur le plan international (**Tindall et al., 2005**). Elle a révélé la présence de deux espèces dans le genre *Salmonella* (*S. enterica*, espèce majoritaire et *S. bongori*, espèce rare). *S. enterica* est elle-même subdivisée en six sous-espèces. L'espèce *bongori* et les différentes sous espèces d'*enterica* sont ensuite subdivisées sur la base du sérotypage en de très nombreux sérotypes. À ce jour, plus de 2500 sérotypes (ou sérovars) sont décrits (**Popoff, 2001**).

Le réservoir des bactéries du genre *Salmonella* est principalement le tube digestif des vertébrés. De très nombreuses espèces animales hébergent ces agents pathogènes (volailles,

bovins, porcs, poissons, reptiles,...). La sous-espèce *enterica* est plutôt adaptée aux animaux à sang chaud et à l'homme (Weill, 2009).

D- Entérobactéries opportunistes

D.1- Groupe des K.E.S

Dans le groupe *Klebsiella - Enterobacter - Serratia*, dit K.E.S., sont rassemblées des *Enterobacteriaceae* qui ont en commun les caractères suivants:

- La réaction de Voges-Proskauer (VP) est généralement positive;
- Bactéries pathogènes opportunistes;
- Multi résistance aux antibiotiques (Avril et al., 2000).

a- *Klebsiella*

Les *Klebsiella* sont des bactéries immobiles, en diplobacilles, généralement capsulées (Delarras, 2007) et fermentent de nombreux sucres avec production de gaz, mais elles ne sont pas protéolytiques (Fauchère et Avril, 2002). Sur milieu gélosé, les colonies sont caractéristiques: elles sont volumineuses, bombées, brillantes et très visqueuses à cause de la capsule. (Fauchère et Avril, 2002).

Le genre *Klebsiella* comporte actuellement cinq espèces *K. pneumoniae* comportant 3 sous espèces: *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *K. pneumoniae* subsp. *ozanae* et *K.pneumoniae* subsp. *Rhinoscleromatis* ; *Klebsiella oxytoca* ; *Klebsiella ornithinolytica* ; *Klebsiella terrigena* et *Klebsiella planticola* (Farah et Boutefnouchet, 2007).

L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*, germe très répandu dans la nature (sol et eau), saprophyte des voies respiratoires supérieures et il est l'agent des surinfections respiratoires (Lamnaouer, 2002). *Klebsiella pneumoniae* est un pathogène à fort potentiel épidémique fréquemment impliqué dans des infections sévères.

b- *Enterobacter*:

Les *Enterobacter* sont des bacilles à Gram négatif généralement mobiles, fermentent ou non le lactose et ils ont une β -galactosidase (Fauchère et Avril, 2002).

Différentes espèces constituent ce genre. Certains n'ont jamais été associés à des infections humaines. Les espèces les plus souvent isolés incluent *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, suivie par *Enterobacter sakazakii*. Les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, sont des pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses, y compris la bactériémie, les infections des voies

respiratoires et urinaires, l'endocardite, les infections intraabdominales et ophtalmiques, l'arthrite septique et les ostéomyélites (Fraser et al., 2010).

c- *Serratia*:

Toutes les *Serratia* possèdent une gélatinase et une DNase sauf (*S. fonticola*) (Denis et Ploy, 2007). D'une manière générale, les espèces de ce genre sont isolées des plantes (légumes, champignons, mousses), du tube digestif des rongeurs (40% des petits mammifères sauvages sont porteurs de *Serratia spp.*), des insectes, de l'eau et du sol (Euzéby, 2003). Le genre *Serratia* comprend maintenant dix espèces: *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia proteomaculans*, *Serratia grimesii*, *Serratia polymuthica*, *Serratia rubidaea*, *Serratia odorifera*, *Serratia ficaria*, *Serratia fonticola*, et *Serratia entomophila* (Sekhsokh et al., 2007).

D-2- Groupe des *Proteae*:

La tribu des *Proteae* ou groupe *Proteus- Morganella- Providencia*, appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*.

Les *Proteus* et *Morganella* hydrolysent rapidement l'urée contrairement aux *Providencia* qui ne possèdent pas d'uréase (Amhis, 2004).

a-*Proteus*:

Les *Proteus spp.* sont des bacilles à Gram négatif, généralement très mobiles, polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1,0 µm à 80 µm de longueur. Les espèces du genre *Proteus* sont largement répandues dans la nature et elles sont isolées du sol, de l'eau, de l'intestin de l'homme et de nombreuses espèces animales. Actuellement, le genre *Proteus* rassemble cinq espèces (Lamnaouer, 2002) dont 3 espèces importantes pour l'homme, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* (Goubau et Pellegrims, 2000).

Proteus mirabilis est l'espèce la plus fréquemment isolée de prélèvements cliniques. (Lamnaouer, 2002). Après *Escherichia coli*, elle est la bactérie la plus souvent isolée des urines et elle est à l'origine aussi d'infections nosocomiales (Mahrouki et al., 2009).

II-1-2-Bacilles à gram négatif non fermentaires

II-1-2-1-Genre *Pseudomonas* sp A-Taxonomie

Palleroni qui a classé les espèces de *Pseudomonas* en 5 groupes génomiques ; les *Pseudomonas* vrais appartenant au groupe I (Martin, 2007).

Le genre *Pseudomonas* a hébergé un nombre croissant d'espèces par manque de caractères phénotypiques spécifiques, puis a été restreint à une cinquantaine d'espèces après l'apport des travaux génétiques (Martin, 2007). Le genre *Pseudomonas* est classé dans la famille des *Pseudomonadaceae*, l'ordre des *Pseudomonadales*, la classe des *Gammaprotobacteria*, division des *Proteobacteria*, embranchement des *Procaryotes* et règne des *bacteria* (Garrity et al., 2010).

B- Habitat

Ces bactéries occupent des niches écologiques variées, mais se retrouvent plus particulièrement dans les milieux humides tels que les eaux douces, les eaux de mer et les eaux thermales. Elles se retrouvent en plus petite quantité dans les eaux riches en matières organiques (en particulier les eaux stagnantes). Elles sont considérées comme une flore commensale chez l'homme ou l'animal. Certaines jouent un rôle pathogène dont *Pseudomonas syringae* chez les plantes et *Pseudomonas aeruginosa* chez l'homme et l'animal (Avril et al., 2000).

C- Caractères bactériologiques

Les Bacilles à Gram négatif, en forme de bâtonnets droits et fins de 1 à 3 µm de long ; 0,5 à 1 µm de large, mobiles par une ciliature polaire, non sporulés. Parfois entourés d'une pseudocapsule qui peut jouer un rôle important dans la pathogénicité de ces bactéries. La culture est facile sur milieu complexe avec ou sans production de pigment, la température de croissance variée de 4 à 45°C selon les espèces, *P. aeruginosa* peut être cultivée à 41°C mais pas à 4°C. Ces souches sont capables de cultiver sur des milieux minéraux synthétiques avec une source simple de carbone : acétate, pyruvate et des milieux sélectifs à base de Cétrimide que l'on peut additionner d'antibiotique (acide nalidixique) (Avril et al., 2000).

P. aeruginosa comprend c'est une espèce fluorescente produisant des pigments spécifiques. Les deux pigments les plus fréquents et caractéristiques sont la pyocyanine et la pyoverdine qui sont solubles dans les milieux de culture (Martin, 2007).

D- Pouvoir pathogène et Virulence

Les *Pseudomonas* sont Peu virulent pour l'individu normal, par contre ils sont considérés comme des agents infectieux redoutables lorsque les défenses immunitaires du sujet sont altérées. *P. aeruginosa* est l'exemple type de la bactérie pathogène opportuniste. Les malades particulièrement sensibles sont les nourrissons, les personnes âgées, les sujets atteints d'affections graves, chroniques, métaboliques (diabète) mais surtout hématologiques ou cancéreuses. Chez les brûlés, cette infection est l'une des causes majeures de mortalité (**Avril et al., 2000**).

Les toxines élaborées et les composés de la paroi des espèces de genre *Pseudomonas* sont considérés comme des facteurs essentiels de la virulence. En dehors des pigments, elle élabore des protéines et des substances toxiques. On distingue principalement : une hémolysine thermostable, des exo-enzymes (protéases, phospholipases) et des toxines protéiques (exotoxine, entérotoxine) (**Garrity et al., 2010**).

II-1-2-2- Genre *Acinetobacter* ssp

A- Taxonomie

La désignation actuelle du genre, *Acinetobacter* (du Grecque [Akinetos] qui veut dire non mobile), a été initialement proposée par **Brisou et Prévot en 1954**. En 1968 le genre *Acinetobacter* a été répertorié, avec la description d'une seule espèce, *Acinetobacter calcoaceticus* (La souche type pour le genre et l'espèce est *A. calcoaceticus* ATCC 23055). Dans la "Approved List of Bacterial Names", en revanche, deux espèces différentes, *A. calcoaceticus* et *A. lwoffii*, ont été incluses, basé sur le fait que certains *Acinetobacter* peuvent acidifier le glucose tandis que d'autres non (**Peleg et al., 2008**).

B- Habitat

Acinetobacter ssp est un germe ubiquitaire retrouvé dans les sols, l'eau potable, les eaux de surface ainsi que dans diverses denrées alimentaires. On estime que jusqu'à 25% de la population est porteur d'*Acinetobacter* ssp (**Siegrist, 2000**).

Des souches d'*Acinetobacter* ssp sont fréquemment isolées des eaux usées et des boues activées des stations d'épuration. Elles sont capables de stocker les phosphates sous forme de polyphosphates, mais leur rôle en tant qu'agent biologique d'élimination des phosphates a certainement été surestimé (**Lambert, 2007**).

Chez l'homme et les animaux, les *Acinetobacter* ssp font partie de la flore cutanée normale. Ces bactéries sont isolées de la bouche, de la gorge, de la trachée, du nez, de la

conjonctive. D'une manière globale, l'espèce pathogène ou saprophyte la plus fréquemment isolée est *Acinetobacter baumannii* (Euzéby, 2010). On les isole aussi de matériels divers : cathéters, appareils de ventilation assistée, cuvettes (Joly-Guillou et Bergogne-Bérézin, 2006).

Acinetobacter baumannii est l'agent fréquent de colonisation cutanée et muqueuse chez les patients hospitalisés en unités de soins intensifs. Cette bactérie est aussi responsable d'infections nosocomiales qui concerne essentiellement l'arbre respiratoire, l'appareil urinaire, les plaies, et peuvent évoluer vers une bactériémie. D'autres manifestations cliniques ont été observées : pleurésies, péritonites chez les dialysés, méningite, etc. ces infections se manifestent souvent par bouffées épidémiques et sont dues à des souches multi résistantes (Lambert, 2007).

C- Caractères bactériologiques

Ce sont des coccobacilles, courts, à Gram négatif, non sporulés, parfois capsulés, immobiles (mais pouvant présenter une mobilité par saccade résultant de la présence de fimbriae polaires) (Peleg et al., 2008).

L'isolement des souches en milieu solide peut être obtenu après incubation à température comprise entre 30 et 37°C sur des milieux conventionnels (gélose au sang, gélose trypticase soja, etc.) et sur les milieux dédiés aux bacilles à Gram négatif comme la gélose Mac Conkey ou la gélose de Drigalski, à l'exception de l'*Acinetobacter baumannii* qui se caractérise par sa température de croissance entre 15°C et 44°C, critère essentiel dans le diagnostic différentiel avec les autres espèces. Les colonies apparaissent en générale lactose négatif sur les milieux lactosés (Lambert, 2007).

Ce sont des aérobies stricts, catalase (+), oxydase (-), prototrophes, (Avril et al., 2000). Ils ne réduisent généralement pas les nitrates en nitrites en milieu complexe.

D- Pouvoir pathogène

L'incidence des infections à *A. baumannii* a considérablement augmentée durant les 20 dernières années. En particulier dans les unités de soins intensifs et de chirurgie, des services où le risque de colonisation et d'infection est important, vu le terrain particulier des patients et la fréquence des manœuvres invasives (Giamarellou et al., 2008).

Acinetobacter ssp est responsable d'infections urinaires chez les malades sondés et peut être isolé aussi lors de pleurésies, de pneumonies, et dans les crachats et aspirations de malades de réanimation, de conjonctivites, de sinusites, de suppurations cutanées,

d'ulcérations intestinales, bactériémie ou une septicémie vraie, de péricardites et de méningites graves chez des malades âgés, fragilisés par une intervention chirurgicale majeure (Avril et al., 2000).

II-2- Cocci à Gram positif

II-2-1- *Staphylococcus aureus*

A-Taxonomie

La classification du genre *Staphylococcus* a subi plusieurs remaniements successifs qui repose sur l'analyse des séquences des gènes codant pour l'ARN ribosomal (ARNr) 16S et on reconnaît actuellement 45 espèces et sous espèces de staphylocoques, que l'on peut identifier grâce à leurs différents caractères phénotypiques (réactions biochimiques, structure de la paroi) et génotypiques (polymorphisme de restriction, ribotypage et autres), ce dernier étant le plus souvent réservé aux études épidémiologiques. Dix-sept de ces espèces sont retrouvés chez l'homme (Garrity et al., 2002), d'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments.

Parmi celles retrouvées chez l'homme, trois espèces occupent une place privilégiée essentiellement dans la pathologie humaine: *S. aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*, les autres sont rarement impliquées (Avril et al., 2003).

B- Habitat

Les staphylocoques sont des pathogènes humains, fréquents, polyvalents et importants (Spicer, 2003). Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement, tels que la dessiccation (ils survivent plusieurs mois dans des produits pathologiques desséchés), aux variations de température (ils résistent 2 h à 55° C, voire 1 h à 60° C), au choc osmotique (salinité de l'eau) et résistent encore mieux en milieux albumineux.

Ces caractères ubiquitaires et saprophytiques expliquent que ces germes soient aussi des commensaux, occasionnels ou permanents de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux qui semblent constituer le principal réservoir de ces germes, secondairement localisés dans la nature, vraisemblablement par les squames et les poils (Breche et al., 1998 ; Eyquem et al., 1998).

Les staphylocoques, en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis*, font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des «porteurs asymptomatiques». Environ 50% des sujets normaux sont porteurs de *S. aureus*: porteurs persistants, porteurs occasionnels

ou transitoires. Ils sont retrouvés particulièrement dans l'oropharynx, les fosses nasales antérieures qui paraissent être son gîte essentiel (*S. aureus* 30-40%, *S. epidermidis* 30-100%) et au niveau des régions cutanées chaudes (creux axillaire) et humides (périnée, aisselles. (Avril et al., 2003 ; Fauchere et Avril, 2002 ; Nauciel ,2005).

C-Caractères bactériologiques

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif de forme sphérique de 0,5 à 1,5 μ de diamètre ils sont immobiles, non sporulés. (Couture ,1990 ; Le Minor et Veron ,1990).

Sur les cultures en milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de "grappes de raisin"(Fasquelle ,1974 ; Fasquelle, 1974 ; Ferron, 1984). Alors qu'en milieu liquide, ils sont souvent isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courtes chaînettes (en générale de 3 à 5 éléments) (Le Minor et Veron, 1990).

Les staphylocoques sont aérobies anaérobies facultatifs (quelques souches exigent le CO₂ pour croître), et croissent bien sur les milieux usuels simples, de même que sur la plupart des milieux qui favorisent la croissance des bactéries à Gram positif.

En bouillon, la culture est rapide, en quelques heures un trouble homogène puis un dépôt sont observés, il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide (Kloos et Shleifer, 1975). Après culture de 24 heures sur gélose au sang, les colonies qu'ils produisent sont de plus grand diamètre que celles produites sur gélose nutritif. Ainsi, une pigmentation peut être observée où la couleur varie selon l'espèce, le caractère pigmentaire n'est donc pas propre à l'espèce (Couture, 1990).

Le milieu de Chapman est particulièrement utilisé, c'est un milieu sélectif, il permet à la fois d'isoler le staphylocoque à partir d'un prélèvement contenant un mélange de germes et nous oriente vers un *S. aureus* ou un *S. epidermidis* (Couture ,1990 ; Fasquelle , 1974 ; Le Minor et Veron ,1990).

les *S. aureus* produisent une catalase mais pas d'oxydase. Ils réduisent le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisent de l'ammoniaque à partir de l'arginine (Fasquelle, 1974 ; Le Minor et Veron, 1990)

Ils produisent de l'hémolyse bêta (Couture, 1990). Les *S. aureus* possèdent également un équipement enzymatique leur permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques (Ferron, 1984)

D- Pouvoir pathogène

Le *Staphylococcus aureus* est une bactérie ubiquitaire que l'on trouve fréquemment sur la peau et dans les narines de l'homme. Il est à la fois un germe commensale et un agent pathogène majeur de l'homme, impliqué dans des pathologies variées dont 1 à 5% des infections communautaires et jusqu'à 30% des infections acquises en milieu hospitalier (Infections nosocomiales). Les infections à *S. aureus* sont très polymorphes, allant d'atteintes cutanées bénignes comme les furoncles ou les panaris à des pathologies mettant en jeu le pronostic vital comme les septicémies, les endocardites, les pneumopathies et les infections du système nerveux central. C'est l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines (Lowy, 1998). Les principaux facteurs de risque d'infection sont le portage nasal et toute rupture de la barrière cutané-muqueuse favorisant la pénétration du germe.

II-2-2- *Enterococcus faecium*

A-Taxonomie

En 1984, des expériences d'hybridation ADN-ADN et l'analyse des séquences des ARNr16S ont permis de montrer que les espèces *Streptococcus faecium* et *S. faecalis* étaient suffisamment distinctes des autres streptocoques pour justifier leur transfert dans le genre *Enterococcus*. A ce jour, 33 espèces forment le genre *Enterococcus* (Beck et Downs, 1999). Cependant, l'évolution des techniques de taxonomie, ainsi que l'intérêt grandissant pour ce groupe de bactéries laisse augurer d'autres réarrangements possibles dans la phylogénie de ce genre

B-Habitat

E. faecium fait partie de la flore commensale et se retrouvent notamment dans le tractus digestif et génito-urinaire (dont urètre).

C-Caractères bactériologiques

Les entérocoques sont des bactéries à Gram positif, non sporulantes qui se présentent sous forme de coques isolés ou arrangés en paires ou en chaînettes et dont le génome contient un faible pourcentage en G+C (37,5 à 44 %). Ce sont des organismes anaérobies aérotolestants, oxydase et catalase négatives.

Les entérocoques ont une température de croissance optimale de 35 °C bien que la plupart des espèces de ce genre peuvent croître à des températures allant de 10 à 45 °C. Ils

peuvent aussi croître en présence de 6,5 % de NaCl, à pH 9,6, et ils survivent à un traitement de 60 °C pendant 30 min (certaines exceptions existent quant à ces capacités). La plupart des entérocoques appartiennent au groupe sérologique D de la classification de Lancefield (Bumann et al., 2002). De par leur faculté à métaboliser les sucres en produisant (majoritairement) de l'acide lactique, les entérocoques appartiennent également au groupe des bactéries lactiques.

D- Pouvoir pathogène

E faecium actuellement est clairement identifié comme une des causes majeures d'infections nosocomiales. Il est responsable d'infections urinaires, de bactériémies et de septicémies, d'endocardites et de suppurations diverses. Le caractère poly microbien des pus à Entérocoques est fréquent. Il peut induire des bactériémies et des méningites chez le nouveau-né (Oprea et al., 2004 ; Pancholi et Fischetti, 1992)

II-3- Antibiotiques

Les antibiotiques sont, par définition, « des produits microbiens, ou leurs dérivés, capables de tuer les micro-organismes sensibles ou d'inhiber leur croissance » (Prescott et al.1995). Leur action étant spécifique et dirigée contre les micro-organismes, ils ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes.

L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre d'action. Plus un antibiotique agit sur des espèces bactériennes différentes, plus son spectre est large. L'action des antibiotiques peut s'exercer sur des structures ou des mécanismes essentiels à la croissance ou à la survie des bactéries. Ainsi, ceux qui inhibent la croissance bactérienne sont qualifiés de «bactériostatiques» alors que ceux qui tuent les bactéries sont dits «bactéricides».

II-3-1- Antibiotiques naturels et synthétiques

Les antibiotiques sont majoritairement représentés par des molécules d'origine naturelle et leurs dérivés. Ils peuvent aussi être d'origine synthétique ou semi-synthétique (Newman et al., 2003; Singh et Barrett, 2006). Les antibiotiques synthétiques sont obtenus, soit à partir de dérivés totalement artificiels, soit en recréant des substances initialement extraites de microorganismes.

Les antibiotiques semi-synthétiques sont issus de la modification, en laboratoire, de substances produites par des micro-organismes. Les antibiotiques sont groupés par familles ou classes en fonction de leurs propriétés structurales. Pratiquement toutes les classes

d'antibiotiques ont été découvertes dans un « âge d'or », qui s'est étendu de 1936 à 1962 (fig. 2).

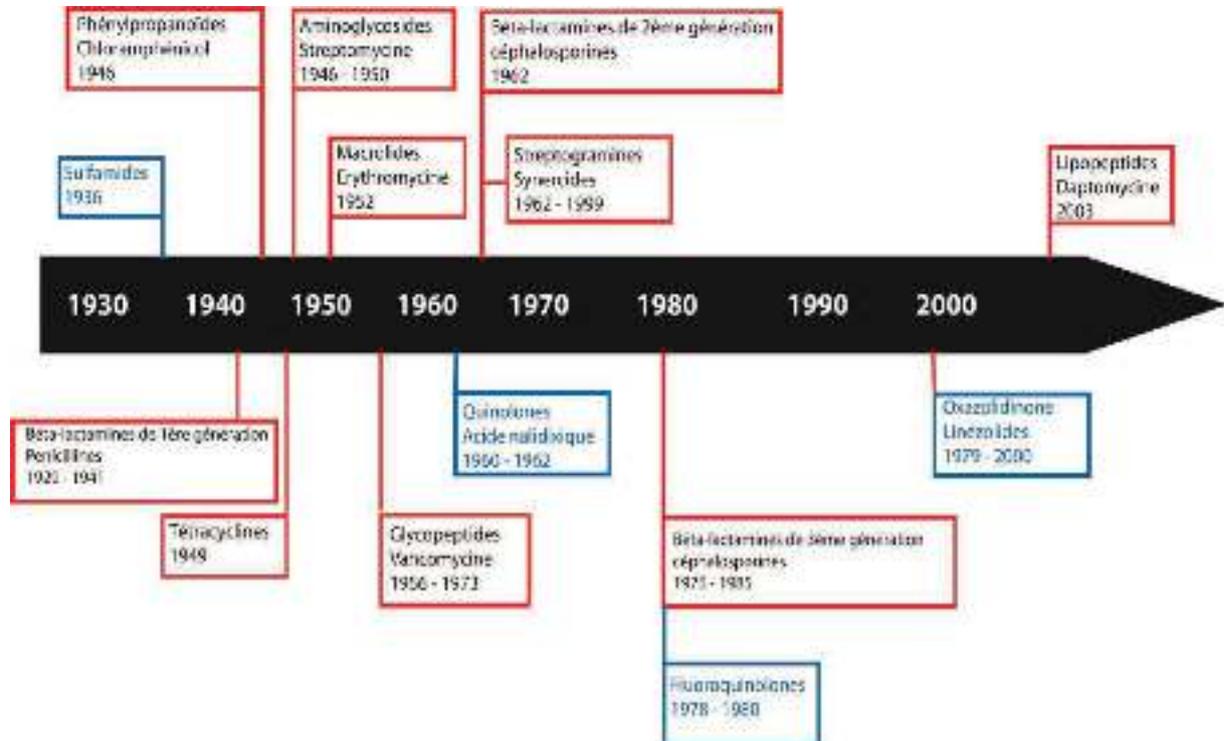


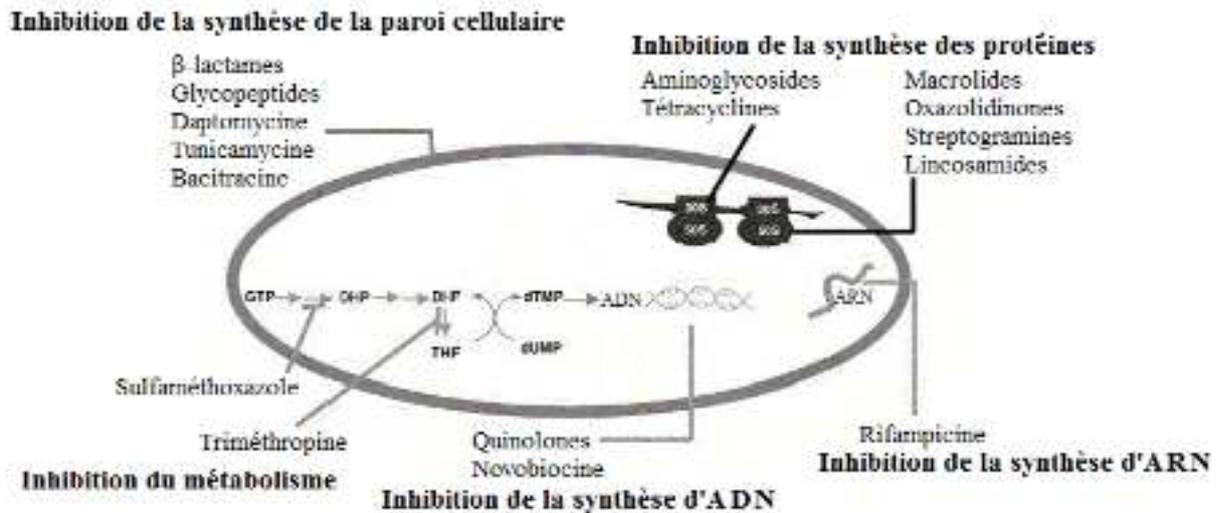
Figure 2: Chronologie de découverte des antibiotiques (Singh et Barrett, 2006)

La pénicilline, premier antibiotique à large spectre, isolé des champignons du genre *Penicillium* sp, marque le début de l'ère antibiotique. Elle appartient à la classe des β -lactames. Sa découverte a ouvert la voie à l'identification de nombreuses autres classes d'antibiotiques d'origine naturelle.

Il existe seulement trois classes d'antibiotiques synthétiques. La première classe est représentée par les sulfamides (Laub, 1986). La seconde classe, les quinolones (ou fluor quinolones), (Singh et Barrett, 2006).

II-3-2- Cibles bactériennes des antibiotiques

Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie (fig. 3).



DHP : dihydroptéroate ; DHF : dihydrofolate ; THF : tétrahydrofolate

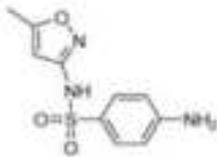
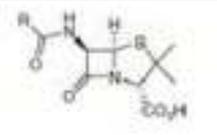
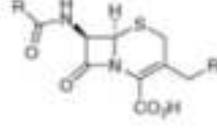
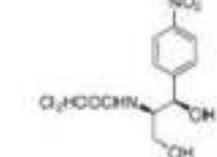
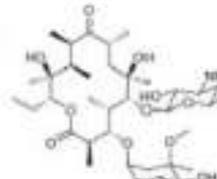
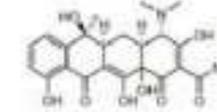
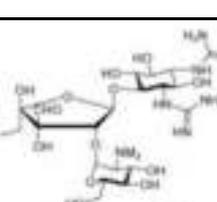
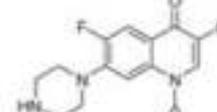
Figure 3 : Mode d'action des antibiotiques (Singh et Barrett, 2006)

Les antibiotiques peuvent inhiber la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN), interférer avec les voies métaboliques de synthèse de l'ADN mais leurs cibles principales sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens (**Tableau 4**).

La complexité des motifs structuraux et la grande variabilité des groupements fonctionnels, qui entrent dans la constitution des antibiotiques, leur permettent d'établir des interactions spécifiques avec leurs cibles bactériennes. Cette haute spécificité, associée à l'exceptionnelle capacité d'adaptation des bactéries, participe, entre autres facteurs, à la sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques.

Chapitre II : Bacilles à Gram négatif et Cocci à Gram positif

Tableau 4 : Mode d'action des principales classes d'antibiotiques

Classe	Origine	Mode d'action	Exemple	Structures chimiques (Singh et Barrett, 2006)
Sulfamides	Synthétique	- Inhibent-la synthèse de l'acide folique - Entraînent une diminution de la production	Sulfaméthoxazole	
β - Lactames de la 1ère génération	<i>Penicillium notatum</i>	Inhibent-la synthèse du peptidoglycane par blocage de la transpeptidation	Pénicilline	
β - Lactames de la 2ème génération	<i>Cephalosporum</i>	Inhibent-la synthèse du peptidoglycane par blocage de la transpeptidation	Céphalosporine	
Phénylpropanoïdes	<i>Streptomyces venezuelae</i>	Se fixent sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S du ribosome empêchant l'élongation du peptide au cours de la traduction	Chloramphénicol	
Macrolides	<i>Streptomyces erythraeus</i>	Se fixent sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S du ribosome empêchant l'élongation du peptide au cours de la traduction	Erythromycine	
Tétracyclines	<i>Streptomyces</i>	Bloquent-la traduction en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome	Tétracycline	
Aminoglycosides	<i>Streptomyces</i> ou <i>Micromonospora</i>	Se fixent sur la sous-unité 30S du ribosome et bloquent en partie la traduction en engendrant des erreurs de lecture	Streptomycine	
Quinolones et fluoroquinolones	Synthétique	Inhibent-la gyrase bactérienne	Ciprofloxacine	

III-1-Introduction

Les plantes sont des êtres vivants qui utilisent la matière minérale et l'énergie du soleil pour produire de la matière organique. Ce processus permet à la plante de synthétiser dans une première étape des hydrates de carbones (les glucides) (Bruneton, 2009; Dewick, 2011). Ces glucides de faibles poids moléculaires (oses) sont utilisés pour la synthèse de métabolites primaires nécessaires pour la survie. Il s'agit de glucides complexes (l'amidon, la cellulose, les pectines ...), des acides aminés (pour la synthèse de protéines), et d'acides gras.

Ces métabolites primaires sont exploitées par l'homme et les animaux pour leur alimentation et apports énergétiques. Par ailleurs, l'homme les utilise également dans le domaine médical pour la fabrication d'excipients tels les oses édulcorants, les polysaccharides dans la fabrication des comprimés ou encore pour l'obtention d'émulsions et autres... Certains de ces métabolites secondaires servent aussi de molécules thérapeutiques.

A partir des oses et des métabolites primaires, la plante synthétise une grande variété de métabolites dits secondaires, plus complexes.

Aujourd'hui, plusieurs de ces phytomolécules ont déjà été décrites mais un grand nombre reste encore mal connu et non caractérisé. Ces composés constituent les principes actifs des plantes médicinales exploités dans la médecine traditionnelle.

En se basant sur leurs structures chimiques, ces phytomolécules issues des métabolites secondaires sont classées en quatre grands groupes chimiques : composés phénoliques, alcaloïdes, terpènes et autres constituants (dérivés simples des métabolites primaires).

Ces métabolites secondaires possèdent plusieurs activités biologiques dont des activités antimicrobiennes et antioxydantes

III-2- Activités antimicrobiennes

III-2-1- composés phénoliques

Les composés phénoliques regroupent un grand nombre de substances chimiques qui possèdent au moins un noyau aromatique. Ce noyau porte une ou plusieurs fonctions alcool (groupement hydroxyle). Les phytomolécules phénoliques

ont des structures allant des plus simples (acide gallique) aux plus complexes (les tanins). Les composés phénoliques possèdent de nombreuses activités biologiques dont des activités antimicrobiennes (**Rath et al., 1995; Xiang et al., 2008; Jankittivong et al., 2009; Rivera et al., 2011; Basli et al., 2012**).

On peut classer les polyphénols en fonction de leur voie de biosynthèse. On distingue ainsi les phénols simples, les coumarines, les stilbènes, les flavonoïdes, les saponines, les lignanes, les quinones (**Tableau 5**) (**Annexe**) présente les différents groupes de composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne décrite

III-2-2-Alcaloïdes

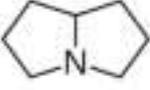
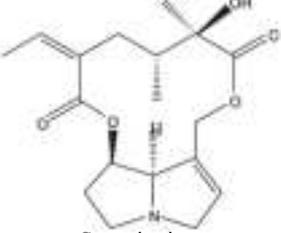
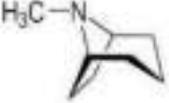
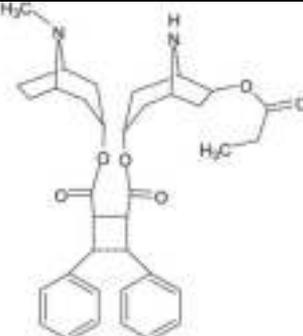
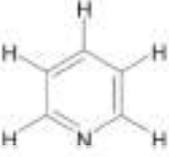
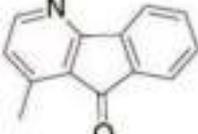
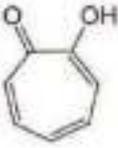
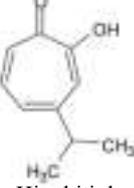
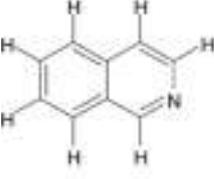
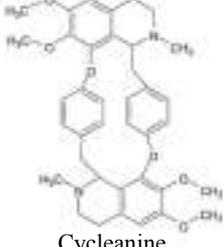
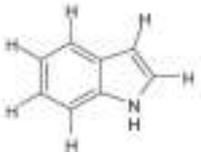
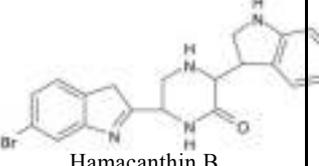
Les alcaloïdes représentent une vaste famille de composés chimiques dont la structure comporte au moins un hétérocycle azoté. Ce sont des composés qui présentent plusieurs activités pharmacologiques telles qu'analgésique (la morphine), antimicrobienne (imidazole, chloroquine, quinine), anticancéreux (vinblastine, vincristine). Ils sont des précurseurs de nombreux médicaments. On les divise en sous-groupes structuraux que sont les tropanes, les pyrrolizidines, les pyridines, les tropolones, les isoquinoléines, les indoles, les purines, les imidazoles et les alcalamines (**Tableau 6**).

III-2-3- Terpènes et stéroïdes

Les terpènes sont des huiles essentielles de nombreuses plantes. Ils sont volatils et constituent la résine et les essences des plantes. Ils peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (**Buchanan et al., 2000**).

La classe des terpénoïdes est la plus variée au niveau structural. Les terpénoïdes dont 25000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq carbones, l'isopenténylpyrophosphate. Les plus petits terpénoïdes

Tableau 6: Classification des alcaloïdes

Classe	Structures de bases	Exemple	Origine et référence
Les pyrrolizidines		 Sencionine	antibactérien, isolé du genre Senecio (Mandić et al., 2009)
Les tropanes		 Mooniine A	antifongique, isolé d'Erythroxyllum mooni (O'Hagan, 2000)
les pyridines		 Onychine	antifongique, isolé de Cleistopholispatens (Hufford et al., 1987)
Tropolone		 Hinokitiol	antibactérien, isolé de T. dolabrata SIEB. (Morita et al., 2003)
Les isoquinoléines		 Cycleanine	antibactérien, isolé d'Albertisia villosa (Lohombo-Ekomba et al., 2004)
Les indoles		 Hamacanthin B	antibactérien (Oh et al., 2006)

sont les hémiterpénoïdes (C₅), qui sont formés d'une seule unité isoprénique. Les autres molécules, appartenant à cette classe, résultent de la condensation de plusieurs isoprènes. Ainsi, les monoterpénoïdes (C₁₀) sont constitués de deux unités isopréniques alors que les sesqui-terpénoïdes (C₁₅) sont formés par l'association de trois isoprènes. Les mono- et les sesquiterpénoïdes sont les plus représentés dans les huiles essentielles.

Les phénylpropanoïdes, ou composés phénoliques, sont biosynthétisés à partir des acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle.

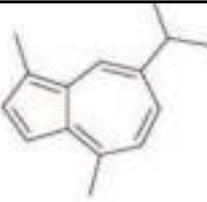
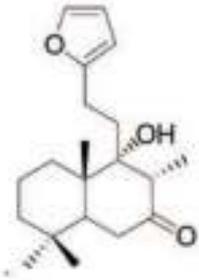
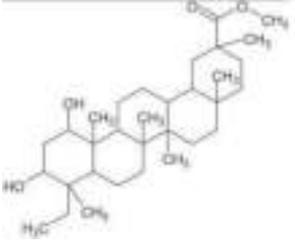
Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés antibactériennes (**tableau 7**). L'activité de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées. Une liste, visant à classer les constituants des huiles essentielles en fonction de l'intensité de leur activité, a d'ailleurs été établie (**Kalembe et Kunicka, 2003**). Les composés phénoliques, comme le thymol, le carvacrol et l'eugénol (**Figures : 4a, 4b et 4c**), sont, du fait du caractère acide de leur substituant hydroxyle, les plus actifs. Aussi, il n'est pas étonnant de constater que les huiles essentielles riches en phénols, comme les huiles de thym, d'origan et de clou de girofle, démontrent les plus hautes activités antibactériennes.

Les composés carbonylés, appartenant aux familles chimiques des aldéhydes et des cétones, sont également décrits comme très actifs. Le cinnamaldéhyde (**Fig. 4d**), principal constituant de l'huile essentielle de cannelle, et la carvone (**Fig.4e**), qui entre dans la composition de l'huile de menthe poivrée, font partie de ce groupe.

De nombreuses huiles essentielles présentent une forte teneur en alcools, comme l'huile de l'arbre à thé, riche en α -terpinéol et en terpinène-4-ol (**Fig : 4f et 4g**), l'huile de géranium, dont les principaux constituants sont le citronellol et le géraniol (**Fig. 4h et 4i**), ou l'huile de lavande, à dominante linalol (**Fig. 4j**). Les alcools sont légèrement moins actifs que les composés phénoliques et carbonylés. Leur activité antibactérienne est toutefois plus élevée.

D'autres groupements fonctionnels, comme les acétates, contribuent à accroître l'activité des molécules antibactériennes. L'acétate de géranyle (**Fig. 4n**) est plus actif que le géraniol contre un grand nombre de bactéries Gram positives et Gram négatives (**Dorman et Deans, 2000**). La nature des groupements alkyles peut également influencer cette activité : les substituants alkényles sont plus actifs que les substituants alkyles. Ainsi, le limonène, qui est substitué par un groupement isopropylène en position 4, présente une plus haute activité que son homologue le *p*-cymène, substitué par un groupement isopropyle (**Dorman et Deans, 2000**).

Tableau 7: Classification des terpènes

Sous-groupe	Structure de base	Exemple d'antimicrobien	Origine
Monoterpène	$C_{10}H_{16}$	 α pinène	antifongique isolé de <i>Pinus sylvestris</i> L. (Pauli, 2006; Amarti et al., 2010)
Sesquiterpènes	$C_{15}H_{24}$	 Guaiazulene	antifongique, isolé de <i>Callitris intratropica</i> (Pauli, 2006)
Diterpènes	$C_{20}H_{32}$	 Hispanolone	antifongique, isolé de <i>Ballota saxalitiss</i> (Citoglu et al., 1998)
Triterpènes	$C_{30}H_{48}$	 Hydroxyimberbic acid glycosides	antibactérien et antifongique, isolé de <i>Combretum imberbe</i> (Katerere et al., 2003)

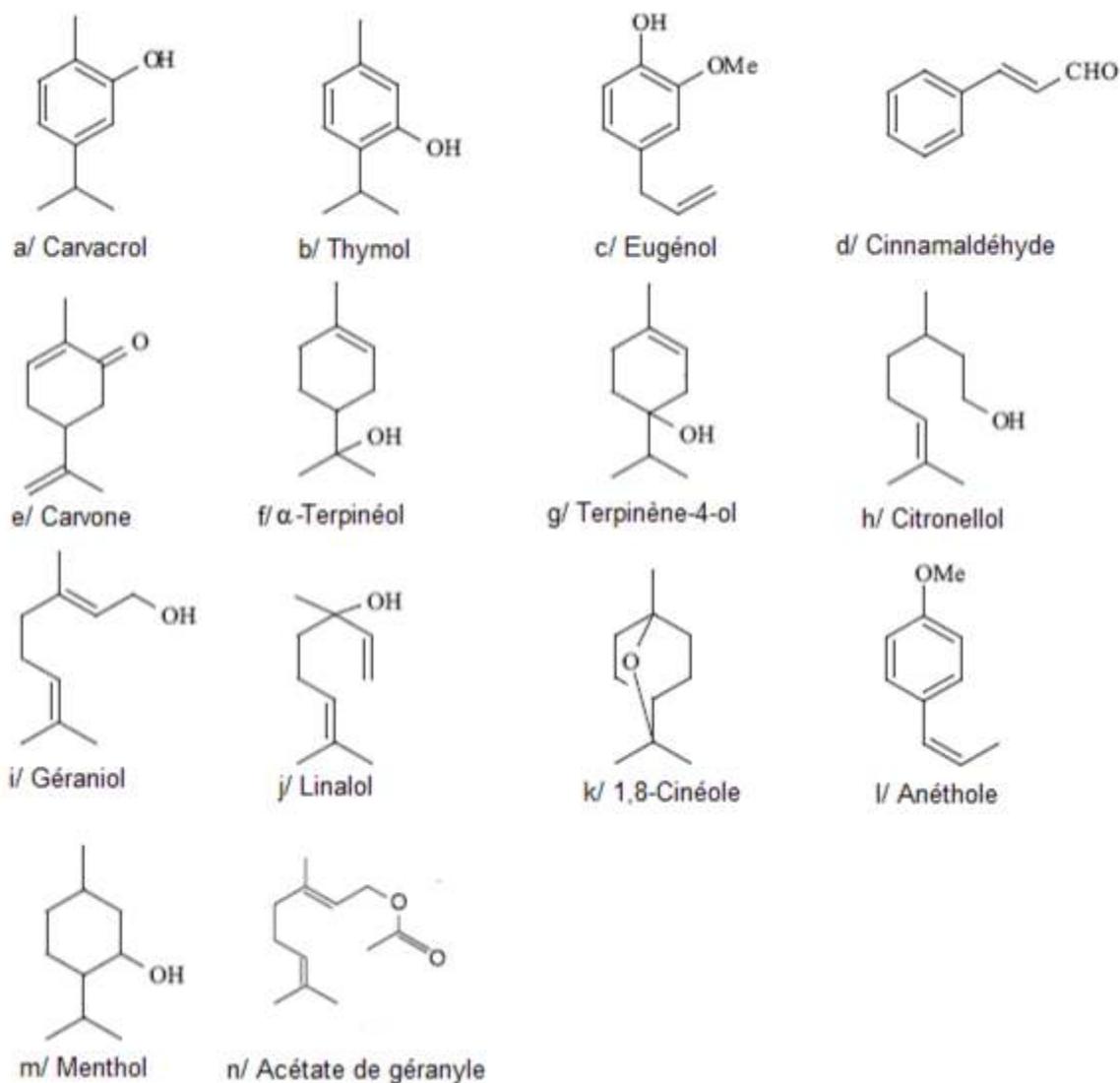


Figure 4 : Composés impliqués dans les activités antibactériennes des huiles essentielles (**Kalemba et Kunicka, 2003**)

A- Mode d'action des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé (**Kalemba et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004**). Compte-tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires (**fig.5**).

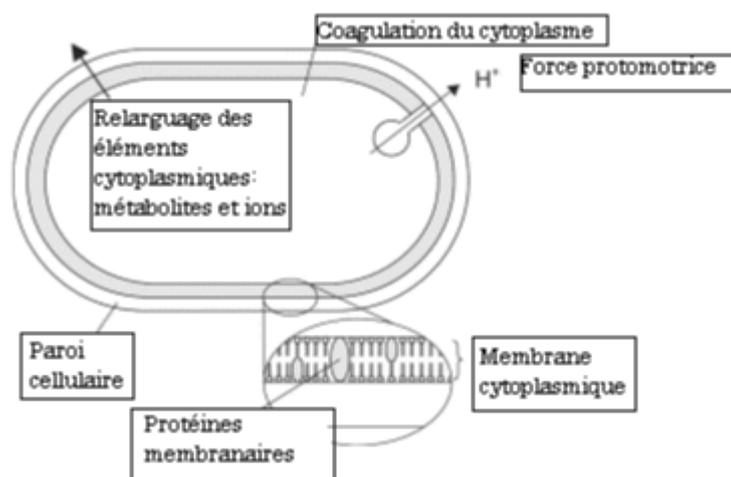


Figure 5 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004)

La principale caractéristique des molécules présentes dans les huiles essentielles est leur hydrophobicité. Elle permet leur solubilisation dans les membranes, ce qui provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire (Sikkema et al., 1994). Ces modifications entraînent une fuite d'ions et de composés intracellulaires (Carson et al., 2002 ; Ultee et al., 2002).

Le mode d'action de certaines molécules antibactériennes a été décrit dans la littérature. Le carvacrol et le thymol semblent capables d'augmenter la perméabilité membranaire (Lambert et al., 2001). En détruisant la membrane externe des bactéries Gram négatives, ils augmenteraient la perméabilité de la membrane plasmique aux métabolites cellulaires (Helander et al., 1998). Le mode d'action du carvacrol a été bien étudié sur *B. cereus*. Ce composé pénètre dans la bicouche lipidique et se positionne entre les chaînes d'acides gras. Cette déformation de la structure augmente la fluidité membranaire, aboutissant à une modification de la perméabilité passive. Chez les bactéries exposées au carvacrol, on observe une diminution de l'ATP intracellulaire, mais aussi une diminution du potentiel membranaire. Ainsi, le carvacrol, en augmentant la perméabilité de la membrane plasmique, n'entraîne pas une fuite d'ATP mais une fuite de protons, qui provoque la chute de la force protonotrice et, donc, de la synthèse d'ATP. Cette information est confirmée par la mesure du gradient de pH à travers la membrane plasmique. Le carvacrol formerait des

canaux dans la membrane permettant la fuite des ions (Ultee et al., 2002). En plus de limiter la croissance, le carvacrol est capable d'inhiber la production de toxines chez *B. cereus*. Deux hypothèses ont été présentées : soit l'exportation active des toxines hors de la cellule n'est plus possible à cause du manque d'ATP ou de la diminution de la force protomotrice, soit le faible taux d'ATP restant dans la cellule est utilisé par la bactérie pour survivre (Ultee et Smid, 2001).

L'action du thymol a été étudiée sur des membranes artificielles (Trombetta et al., 2005). Son efficacité dépend de la composition et de la charge nette de la membrane. Lorsqu'il pénètre dans la membrane plasmique, il semble altérer sa perméabilité et entraîner une perte du matériel intracellulaire. De plus, après avoir traversé la membrane, il peut interagir avec des sites intracellulaires.

Le cinnamaldéhyde est le principal constituant de l'huile essentielle de cannelle (*Cinnamomum cassia*). Ce composé est très actif contre de nombreuses bactéries Gram positives et Gram négatives (*Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Enterobacter* sp). Il inhibe les ATP synthétases bactériennes et provoque une diminution de la production d'ATP intracellulaire (Gill et Holley, 2004 et 2006). Chez *E. aerogenes*, le cinnamaldéhyde semble pouvoir se fixer aux protéines intracytoplasmiques par une inactivation des aminoacides décarboxylases (Wendakoon et Sakaguchi, 1995), ou interférer avec les mécanismes de régulation du quorum-sensing (Niu et al., 2006).

L'eugénol est le principal composant de l'huile essentielle de clou de girofle. Comme le carvacrol, il provoquerait une dégradation de la paroi cellulaire entraînant une inhibition de l'activité des ATP synthétases membranaires (Gill et Holley, 2006). Une concentration sub létale d'eugénol entraîne une inhibition de la production d'amylases et de protéases chez *B. cereus* (Thoroski et al., 1999).

Les modes d'action des huiles essentielles et de leurs principaux constituants, décrits jusqu'à présent, semblent tous affecter la paroi ou la membrane cytoplasmique. Cependant, la variabilité chimique des huiles essentielles laisse présager l'existence de molécules pouvant agir par de nouveaux mécanismes cellulaires.

La résistance aux antibiotiques est un phénomène biologique que la médecine aura du mal à faire disparaître. L'évolution permettra toujours aux bactéries de s'adapter. Une meilleure utilisation des antibiotiques ne pourra que ralentir l'extension

des résistances et la découverte de nouvelles molécules actives reste une nécessité. Les huiles essentielles présentent une très grande richesse de molécules, tant en nombre qu'en variété. Leur criblage permettrait de découvrir de nouveaux antibactériens, qui pourraient constituer une alternative à l'usage des antibiotiques conventionnels devenus inefficaces.

III-3. Méthodes d'évaluation des activités antimicrobiennes :

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antibactérien des huiles essentielles a une grande influence sur les résultats. Le choix de la méthode est conditionné par l'insolubilité des huiles essentielles dans les milieux aqueux, leur volatilité, et la nécessité de les tester à de faibles concentrations.

III-3-1-. Aromatogramme

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie appelée antibiogramme ou méthode de disques ou méthode par diffusion en milieu gélosé. Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne d'une huile essentielle. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs.

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposer à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la bactérie est résistante. Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'huile essentielle sur le germe testé (**Figure 6**).

On peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit en traduisant en croix le degré d'activité (**Guerin et Carret, 1999**).

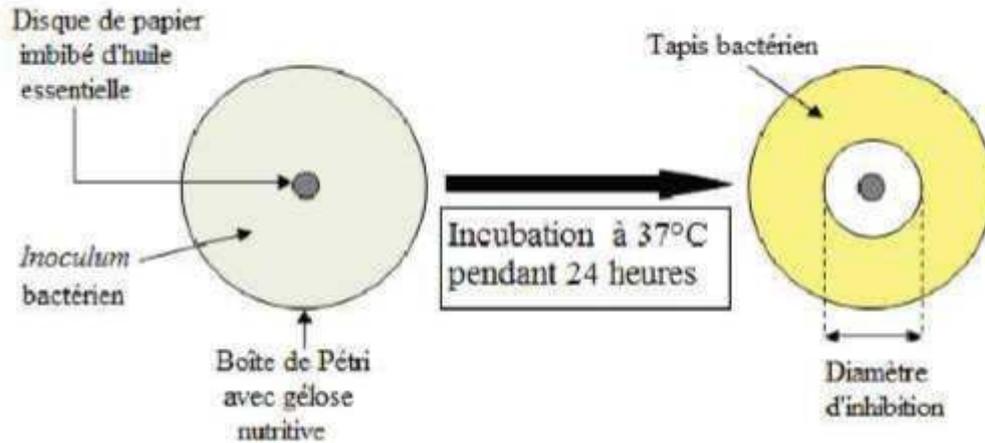


Figure 6. Principe de la méthode de diffusion par disque

III-3-2. Méthode de diffusion en puits

Méthode proposée par **Cooper et Woodman en 1946** et, reprise par **Shroeder et Messing en 1949**. Elle assure une diffusion radiale de l'huile essentielle à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire facilement mesurable. La méthode consiste à découper un trou circulaire dans la gélose et y verser une solution de l'huile essentielle de concentration connue. L'huile essentielle diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne (**Eymard, 2003**).

III-3-3. Méthode de dilution

Les huiles essentielles à tester peuvent également être directement mélangées en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide ou liquide (exige la dispersion homogène par un émulsifiant). Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes, après incubation, on note la présence ou l'absence de culture. La lecture Peut-être visuelle ou à l'aide d'un spectrophotomètre, le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (**Robert-Demuet, 1995**).

III-3-4. Méthode de micro-atmosphère

Cette technique consiste à cultiver les microorganismes à tester dans les boîtes de Pétri sur milieu de culture approprié. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné d'huile essentielle qui est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée après fixation de l'huile essentielle sur le disque (**Figure 7**). Celui-ci n'est donc pas en contact avec le milieu gélose. L'huile s'évapore dans l'atmosphère de la boîte, elle peut exercer son effet inhibiteur sur les microorganismes testés (**Pibiri, 2005**).

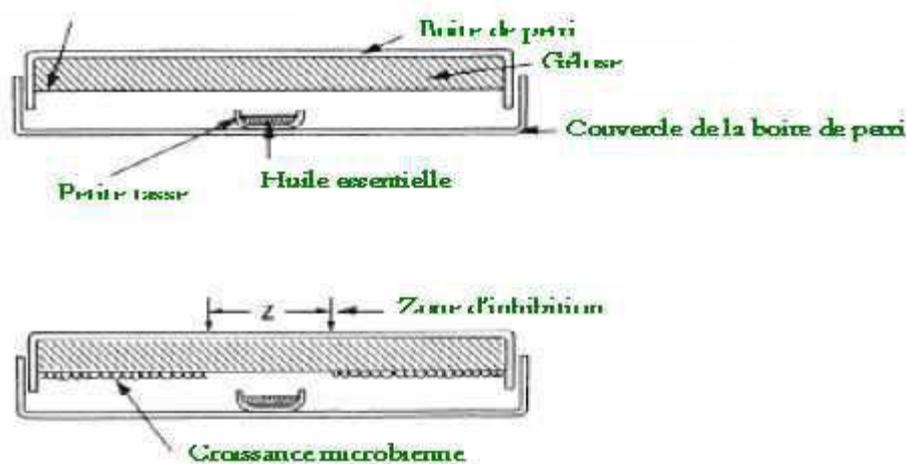


Figure 7 : Principe de la méthode de micro-atmosphère

III-3-5-Détermination de l'effet bactériostatique ou bactéricide

La détermination de l'effet bactéricide ou bactériostatique d'une huile essentielle est réalisée en procédant à un repiquage des zones d'inhibition formées et ne présentant aucune croissance bactérienne visible à l'œil nu sur milieu de culture.

- S'il y a croissance bactérienne, l'huile essentielle a un effet bactériostatique sur la souche testée.
- Si au contraire, il y a absence de croissance bactérienne, l'huile essentielle présente un effet bactéricide vis-à-vis de cette souche.

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus basse concentration capable d'empêcher une croissance bactérienne visible. La CMI

n'est pas totalement bactéricide et une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur (**Mann et Markham, 1998**).

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) est la petite concentration de l'agent inhibiteur ne laissant subsister que 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide de l'huile essentielle (**Haddchi et al., 2009**).

III-3-6-Méthodes de détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice

L'activité antibactérienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide

A-Technique en milieu solide (méthode de la diffusion en disque)

Généralement, plus la zone d'inhibition n'est importante, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne des organismes est faible.

La mesure manuelle des zones d'inhibition peut prendre du temps. Les dispositifs automatisés avec zone de lecture sont disponibles et peuvent être intégrés avec le rapport de laboratoire et les systèmes de manipulation de données. Les disques devraient être distribués également de sorte que les zones d'inhibition autour des disques antibactériennes dans l'essai de diffusion en disque ne se chevauchent pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée (**Mann et Markham, 1998**).

B-Technique en milieu liquide (méthode de dilution)

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antibactérien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée. Cependant, la CMI ne représente pas toujours une valeur absolue. CMI est un point entre la plus basse concentration qui empêche la croissance de la bactérie et la concentration inférieure immédiate (**Mann et Markham, 1998**).

B-1-Dilution en bouillon

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macro-dilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de micro-titration (micro-dilution). L'utilisation de ces plaques avec un protocole documenté, y compris les précisions sur les micro-organismes de référence appropriés, peut faciliter la comparaison des résultats entre analyses (**Mann et Markham, 1998**).

B-2-Dilution en gélose

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte (**Mann et Markham, 1998**).

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Durant notre stage pratique qui s'est étalé du mois d'Avril jusqu'au mois de Septembre ; nous avons réalisé deux parties expérimentales :

-La première partie se structure sur l'examen cytobactériologique des urines des patients internes (hospitalisés) et externes dans des différents services du CHU de Kolea wilaya de Tipaza

-La deuxième partie se base sur l'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artémisia herba alba* vis-à-vis des souches isolées cliniquement.

Nous avons effectué l'étude expérimentale au sein des structures suivantes :

-L'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne de l'*Artémisia herba alba* au niveau de laboratoire phyto pharmacie à l'institut d'agronomie.

-Laboratoire d'hygiène de Blida

-Et le laboratoire d'analyse microbiologique de l'hôpital de Kolea Afin d'atteindre nos objectifs nous avons validé différents protocoles par l'utilisation des techniques scientifiques modernes.

I-1-Matériel :

I-1-1-Matériel non biologique : (voir Annexe)

I-1-2-Matériel biologique :

A-Matériel végétal:

Notre étude a porté sur l'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne de la plante d'*Artémisia herba alba* récoltée durant le mois de Mars 2017 dans la région de Djelfa.

La plante a été identifiée par le botaniste au niveau du département de botanique d'Institut National d'Agronomie (I.N.A.) d'Alger.

B-Bactéries:

Afin d'étudier le pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'*Artémisia herba alba* , nous avons utilisé des souches bactériennes d'origine clinique.

Les souches bactériennes d'origine clinique sont isolées à partir de trois produits pathologiques différents (urines, pus et selles). Les prélèvements sont effectués sur des patients internes hospitalisés et des patients externes dans des différents services d'hôpitaux (l'hôpital Mustapha Pacha de la wilaya d'Alger et l'hôpital de Boufarik).

I-2- Méthodes

I-2-1-Récolte

A- Prélèvement des échantillons

Nous avons procédé à un échantillonnage . Nous avons choisi les parcelles après une prospection de la région d'étude puis au moment de la récolte nous avons coupé systématiquement tous les pieds d'*AHA* sains, bien fournis qui se trouvent à l'intérieur de la parcelle Ainsi, dans la station de Djelfa, la distribution spatiale des pieds d'*Artémisia herba alba* est homogène. Le nombre de pieds d'*AHA* à l'intérieur de 1 m^2 varie de 1 à 3 pieds. Nous avons donc récolté 1 échantillon (un échantillon correspondant à 100 pieds) sur un terrain de $10 \times 10\text{ m}^2$ durant le mois Mars 2017

Après la récolte, les échantillons sont mis dans des sacs bien aérés, puis étalés sur du papier à l'ombre et à l'abri de l'humidité, à la température ambiante, jusqu'à ce qu'ils deviennent complètement secs. Par la suite, nous avons effectué des extractions des huiles essentielles (HE).

I-2-2-Extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation

Le choix du procédé d'obtention de l'huile essentielle est en général limité par les normes liées à son utilisation. En effet, le mode technologique d'exploitation du matériel végétal peut avoir une influence importante sur la composition finale de l'huile essentielle.

Dans notre étude, l'huile essentielle d'*Artémisia herba alba* est obtenue par hydro distillation à l'aide d'un appareil de type **Clevenger (Afnor, 2000)**.

Principe :

Le matériel végétal séché est soumis à une hydro-distillation au moyen d'un dispositif d'extraction type *Clevenger (Figure 9)* Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale séchée dans un grand ballon en verre, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile et enfin elle est conservée dans des flacons opaques bien scellés à température

basse (4-5°C). L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition.



Figure 9 : Extraction des huiles essentielles par la méthode Clevenger

A- Détermination de La quantité du matériel végétal nécessaire pour l'extraction

Afin d'étudier l'influence de la masse de la matière végétale à traiter sur le rendement en HE, nous avons effectué une série d'essais en utilisant :

- Un vase à plante
- Masses de matières végétales (feuilles et fleurs, tiges) traitées : 50g ,100g, 150g et 200g. Le rendement en HE est estimé avec le rapport suivant :

$$\text{Rdt en HE\%} = \frac{p'}{P} \cdot 100$$

Rt en HE : Rendement en HE, exprimé en %

P' : le poids de L'HE, en gramme

P : le poids de la matière sèche, en gramme

I-2-3- Caractérisation des huiles essentielles

A- Détermination des indices physiques.

a- Densité

Principe : Elle constitue un point de repère important. Sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE (Elenkova, 1983).

La densité relative à 20°C d'une HE est définie comme étant le rapport de la masse d'un volume d'HE à 20 °c, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°c (Afnor, 2000)

- Si la densité est inférieure à 0.9, les essences des plantes végétales sont riches en terpènes

- Dans le cas où elle est supérieure à 1, les essences des plantes végétales contiennent des produits de la série aromatique, des sulfures et des nitrites.

- Enfin si la densité est comprise entre 0.9 et 1, les essences ont une composition complexe.

Mode opératoire : Pour déterminer la densité, nous avons évalué la masse m_0 du pycnomètre vide de 1 ml, la masse m_1 du pycnomètre rempli d'eau distillée. Puis la masse m_2 du pycnomètre contenant l'HE.

La densité relative est donnée par l'expression

$$D_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m_0 : Masse en gramme du pycnomètre vide

m_1 : Masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau distillée

m_2 : Masse en gramme du pycnomètre rempli d'huile essentielle

b- Indice de réfraction

Principe :

L'indice de réfraction est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante. La température de référence est de 20°C (Afnor, 1982).

Mode opératoire :

L'indice de réfraction a été déterminé par la lecture directe de l'angle de réfraction à l'aide du réfractomètre, en employant la lumière diffuse

L'indice de réfraction n_d^t à la température de référence $t=20^\circ\text{C}$ (N_d^{20}), est déterminée par la formule suivante :

$$N_d^{20} = n_d^{t'} + 0,0004 (t' - t) \text{ avec } t = 20^\circ\text{C}$$

$n_d^{t'}$: est la valeur obtenue à la température t'

B-Détermination des indices chimiques

a- Indice d'acide

Principe : L'indice d'acide correspond à la quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres contenus dans 1 g d'HE.

Mode opératoire : L'indice d'acide est déterminé en ajoutant 0.1 g d'HE à 1 ml d'éthanol et 2 à 3 gouttes de phénolphaléine. La solution ainsi obtenue est titrée par une solution de KOH, de normalité 0.1 jusqu'à l'apparition d'une coloration rose-pâle (**Afnor, 2000**).

L'indice d'acide d'HE est calculé par la formule suivante:

$$IA = 56, 1. a.f/g$$

IA: Indice d'acide.

a : volume de KOH utilisé (ml).

f : normalité de KOH utilisé.

g : masse de l'échantillon (0.1g).

b-Indice d'ester

Principe : L'indice d'ester est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans un g d'HE.

Mode opératoire : Ainsi, pour sa détermination, on introduit dans un ballon en verre 2 g d'HE contenant 25 ml de la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) (0.5 ml/l). L'ensemble est placé sur une source de chaleur et relié à un réfrigérant, puis on laisse chauffer à 100°C pendant une heure. Ensuite, on ajoute, après refroidissement, 20 ml d'eau distillée et 5 gouttes de phénol phtaléine (2%) et on titre l'excès de KOH avec une solution de HCL (0.5 mol/l).

En parallèle, on effectue un essai à blanc dans les mêmes conditions et avec les mêmes réactifs.

La formule pour le calcul de cet indice est la suivante :

$$IE= 28,05/m.(V_0-V_1).IA$$

IE : Indice d'ester.

m: la masse en gramme de la prise d'essai (2g).

V₀ : le volume en ml de la solution d'HCL (0.5 ml/l) utilisé pour l'essai.

V₁ : le volume en ml de la solution d'HCL (0.5 ml/l) utilisé pour la détermination de l'indice d'ester.

IA : Valeur d'indice d'acide

c-Miscibilité à l'éthanol :

Principe : La miscibilité à l'éthanol est un moyen rapide pour l'évaluation de la qualité d'une HE falsifiée par des produits relativement insolubles affectant la solubilité.

Mode opératoire : Une HE est dite miscible à l'éthanol à 70°C, quand le mélange de 1 volume d'HE avec V volumes d'éthanol donne une solution limpide (**Afnor, 2000**). Dans le cas contraire elle est considérée non miscible.

I-2-4-Examen Cytobactériologique

A- Techniques de Prélèvement

Trois types de produits pathologiques ont été étudiés: les urines, les selles et le pus.

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignement qui comporte :

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

a- Prélèvement d'urines

Après lavage hygiénique des mains et toilette soignée des organes génitaux externes, 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 (**Djennane et al., 2009**).

Chez les nouveaux nés et les petits enfants, un collecteur stérile spécifique est utilisé. Ce dispositif à usage unique se pose après désinfection soignée du périnée. A la fin de la miction, le collecteur est ôté et fermé hermétiquement et porté au laboratoire dans une demi-heure, sinon il faut le placer dans de la glace (**Djennane et al., 2009**).

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 (**Djennane et al., 2009**).

b- Prélèvement de 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 (**Mariani et Bingen, 2007a**).

c- 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 (**Ploy et Denis, 2007**).

B- Méthodologie de Diagnostic

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

B-1- Étude cyto bactériologique des urines

Il s'agit d'une analyse d'urine consécutive au prélèvement d'un échantillon dans des conditions rigoureuses d'asepsie. (**Bridier et Pinte, 2006**)

L'ECBU permet :

- de diagnostiquer une infection urinaire par un examen microscopique et ensemencement en boîte de pétrie.
- de guider le traitement antibiotique grâce à l'antibiogramme. (**Labescat ; 2008**)

Interprétation d'ECBU :

Le résultat d'urine s'interprète en associant la cytologie et la bactériologie (**Tableau 7**).

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Il est conseillé de dénombrer les bactéries présentes dans l'urine afin de confirmer l'absence ou la présence d'infection urinaire, le seuil significatif (pour dire qu'il ya une infection urinaire) est fixé à 10^5 bactéries par millilitre.

Tableau7: Interprétation d'examen cytbactériologique des urines

Leucocyturie/ml	Bactéries/ml	Interprétation :
$<10^4$	$<10^5$	Pas d'infection.
$\geq 10^4$	$\geq 10^5$	Infection urinaire.
$=10^3$	10^4-10^5	-bactériurie sans leucocytes. -contamination de prélèvement avec mise en culture tardive. -infection débutante. -infection sur terrain particulier femme enceinte, nourrisson, diabétique ou aplasique, immunodéprimé. -un nouveau prélèvement est nécessaire.
$\geq 10^4$	$<10^4$	-leucocyturie sans germes. -infection décapitée par traitement antibiotique précoce avant prélèvement. Tuberculose urinaire : les bactéries se cultivent sur les milieux usuels. -urétrite (chlamydiae, mycoplasme) donnant des signes de cystite chez la femme. -réaction inflammatoire d'origine non infectieuse (traumatisme ou tumeur)

B-1-1-Examen macroscopique :



Aspect des urines :

L'urine normale est claire, un aspect trouble peut être dû à une infection urinaire mais aussi à la présence des cristaux ou de sels amorphes.

○ Technique :

Homogénéiser l'urine par retournement ou par agitation mécanique et noter l'aspect limpide ou trouble et la présence d'une éventuelle hématurie.

B--1-2-Examen Microscopique :

Cet examen doit être effectué dans les deux heures qui suivent le prélèvement afin de limiter l'altération des éléments cellulaires.

➤ **Examen à l'état frais :**

C'est un examen qui se fait entre lame et lamelle sur cellule hématimétrique ou sur cellule normale, il se présente de ce fait un double intérêt :

- quantitatif : numération des éléments cellulaires.
- - qualitatif : description des différents éléments cellulaires.

L'examen de l'urine totale entre lame et lamelle (Ox40) permet de distinguer les éléments suivants : les leucocytes, les hématies, les cellules épithéliales, les cylindres, les cristaux urinaires, Eléments minéraux amorphes et les bactéries

➤ **Examen direct après coloration :**

A l'état frais, on peut apprécier la présence éventuelle de bactéries, leurs formes (cocci ou bacilles) et leur mobilité

- **Coloration au bleu de méthylène :**

Elle permet la différenciation des leucocytes (aspect morphologique) et elle permet de visualiser la disposition des bactéries dans les cellules (intra ou extracellulaire) et aussi d'apprécier le mode de regroupement des bactéries (**Djennane et al ; 2009**)

- **Technique :**

La coloration au bleu de méthylène est réalisée en faisant couler une solution de bleu de méthylène sur un frottis correctement fixé, le temps de contact est d'une minute. La lame est ensuite rincée à l'eau du robinet, séchée entre deux feuilles de papier buvard puis observée à

Denis et Ploy, 2007)

l'immersion. Les structures colorables apparaissent bleues. (

B-1-3-Examen bactériologique :

L'uroculture permet de quantifier la bactériurie et identifier les germes infectieux dans les urines.

Après la culture qui s'effectue sur une gélose nutritive, l'incubation se réalise à 37°C pendant 18 à 24h.

➤ **Mode d'ensemencement :**

Méthode de l'anse calibrée : cette méthode est actuellement la plus utilisée, l'urine est prélevée à l'aide d'une anse de 10µl et est ensemencée selon méthode standardisée qui permet, grâce à un abaque, de convertir l'aspect de la culture en UFC par millilitre et ce sans dénombrement.

Cette méthode simple, sans dilution préalable permet une numération de 10^3 à 10^6 UFC/ml. Tout en permettant l'obtention de colonies isolées. (Denis et poly, 2007)

L'isolement et l'identification des souches ont été réalisés par les techniques conventionnelles :

➤ **Isolement**

Il s'agit d'ensemencer les milieux de culture appropriés :

- Gélose au sang cuit (GSC) et gélose au sang frais (GSF) pour les germes exigeants comme les streptocoques.

- Milieu Hecktoen sélectif pour les bacilles Gram négatif, comme on peut utiliser le BCP.

- Milieu Chapman sélectif pour les staphylocoques.

Après la durée d'incubation, on observe les boîtes ensemencées à la recherche d'une culture Positive : poussée de colonies. Ces dernières se présentent sous divers aspects, tailles et couleurs.

➤ **Examens microscopiques :**

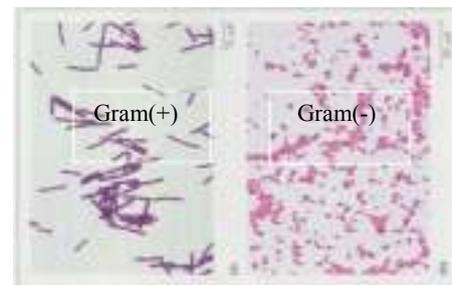
• **Coloration de Gram :**

La coloration de Gram est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie médicale; elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram +) ou la fuchsine (Gram -). L'intérêt de cette coloration est de donner une information rapide et médicalement importante.

Cette différence de coloration est liée à la **nature de la paroi bactérienne**. Elle renseigne sur les bactéries Gram (+) ou les bactéries Gram (-), la forme des bactéries, la taille et le mode de regroupement.

Les bactéries colorées en violet — Gram positif (+)

Les bactéries colorées en rose --- Gram négatif (-)



➤ **Tests d'orientation:**

• **Test de la catalase:**

La catalase est une enzyme du système respiratoire présente chez la plupart des bactéries aérobies ou anaérobies ayant un métabolisme oxydatif. Elle empêche l'accumulation de l'eau oxygénée toxique apparaissant au cours de certaines réactions métaboliques, selon la réaction suivante :



○ **Principe :**

- Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée.

- A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien.
- Observer immédiatement.

- **Lecture :**

Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène → **catalase (+)**

Exp : *Staphylococcus aureus*.



- Pas de bulles → **catalase (-)**

Exp : *Streptococcus pneumoniae*

- **Test de l'oxydase :**

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme: **la phénylène diamine oxydase** des bactéries, à partir de leur culture en milieu gélosé.

Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthylparaphénylène diamine. Ce réactif est incolore, mais en présence de l'enzyme, il libère un composé rose-violacé, noircissant à l'air. La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour orienter l'identification des bacilles Gram (-).

- **Principe :**

- Sur une lame propre et sèche déposer le disque d'oxydase.
- On prend une colonie à l'aide d'une pipette, et on la dépose sur le disque.

- **Lecture :**

- Si la couleur de la colonie est rose violacée → **Oxydase(+)**

Exp : *Pseudomonas aeruginosa*

- Si pas de virage de couleur de la colonie → **Oxydase (-)**

Exp : *Escherichia coli*



B-1-4-Identification biochimique

1. Test biochimique classique (Galerie classique)

La galerie classique est un ensemble des milieux liquides et solides en tubes qui servira à réaliser les tests biochimiques afin de connaître certaines caractéristiques du métabolisme des bactéries isolées.

2. Système Api :

Une galerie Api est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés)

➤ **Principe :**

Elle comporte en générale 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisant par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. .(**annexe bactériologique**)

La lecture de ces réactifs se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou du logiciel d'identification (**voir annexe**)

Il existe différents types de galerie Api, selon le germe isolé :

- **Galerie Api 20 E** : pour l'identification des entérobactéries.
- **Galerie Api 20 NE** : pour les bacilles à Gram négatif oxydase positif
- **Galerie Api Staph** : pour les staphylocoques
- **Galerie Api Strepto** : pour les streptocoques

B-1-5-Identification antigénique des bactéries (tests d'agglutination sur particules de latex) :

➤ **Principe**

C'est un test d'agglutination latex sur cartes à usage unique pour l'identification antigénique des bactéries.

L'antigène bactérien est identifié à l'aide de particules de latex recouvertes d'anticorps spécifiques. Ces particules s'agglutinent fortement en présence de l'antigène homologue alors qu'elle reste en suspension homogène en l'absence de celui-ci. On a utilisé ce test surtout pour l'identification de :

.. *Staphylococcus aureus* qui a une positive agglutination pour la distinguer de staphylocoques blancs

B-1-6- Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

✓ **Principe:**

L'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en gélose (méthode des disques), selon le communiqué du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (**CA-SFM. 2014**), qui repose sur la connaissance du phénotype sauvage caractéristique de l'espèce et de différents phénotypes de résistance acquis. Ces dernières sont

définies non seulement par des caractères de résistance en termes de catégories clinique ("I" ou "R"), mais aussi en termes de diminution significative de sensibilité et par des images typiques (Synergie, Antagonisme

✓ **Technique**

A partir d'une culture pure de 18-24 h sur milieu gélosé Mueller-Hinton, une suspension en 5 ml de solution saline (0,9 % NaCl) a été préparée en équivalente au standard McFarland 0,5 (~ 108 UFC/ml). A partir de cette suspension bactérienne, une dilution au 1/10 dans l'eau physiologique (0,9 % NaCl) a été réalisée et bien homogénéisée; puis ensemencée par écouvillonnage sur des boites de Pétri gélosées en Mueller-Hinton.

✓ **Application des disques d'ATB**

Les disques d'antibiotiques correspondant ont été appliqués à l'aide d'un distributeur ou par un pince en appuyant légèrement ; puis incubés pendant 18-24h à 37°C ± 1°C.

• **Lecture**

La lecture a été faite par la mesurer avec précision les différents diamètres des zones d'inhibition, **en comparaison ces résultats aux valeurs critiques figurant dans l'Annexe N°1**. Les bactéries ont été classées dans l'une des catégories: Sensible, Intermédiaire ou Résistance.

➤ **Antibiotiques utilisés**

Les antibiotiques testés sont les suivants :

Amoxicilline (AM): 25 µg, Amoxicilline+Ac.clavulanique (AMC): 20 +10 µg, Imipénème (IPM): 10 µg, Ticarcilline(TIC): 75 µg, Céfazoline (CZ): 30 µg, Céfoxitine (FOX): 30 µg, Céfotaxime (CTX): 30 µg, Céftriaxone (CRO): 30 µg, Gentamicine (GM):10UI (15µg), Amikacine (AN): 30 µg, Acide nalidixique (NA): 30µg, Ciprofloxacine (CIP): 5µg, Colistine (CS): 50µg, SXT (Trimethoprim + sulfamethoxazole) 1,25 µg +23,75 µg, Rifampicine (RA 30) µg, Aztréonam (ATM) 30 µg, Tobramycine (TM) 10 µg, Céftazidine (CAZ) 30 µg, Piperacilline (PIP) 75 µg, Pénicilline G (P) 10 UI, Oxacilline (OX) 1 µg, kanamycine (K) 30UI, Erythromycine (E) 15UI, Lincomycine (L) 15 µg, Pristinamycine (PT) 5 µg, Vancomycine (VA) 30 µg, Acide fusidique (FA) 10 µg, Tetracycline (TE 30UI).

Les Valeurs critiques des diamètres d'inhibition pour les bactéries sont données par les valeurs critiques bactériologie (**Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire: 6ème édition 2011)** l'annexe

B-1-7-Tests complémentaires :

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

➤ **Recherche de la résistance de *Staphylococcus spp.* A l'oxacilline**

Pour les *S. aureus*, le disque de cefoxitine (FOX) est comparable à celui de l'oxacilline (OX) pour détecter la résistance à l'oxacilline par production de PLP2a (gène *mecA*). Cependant, le disque de cefoxitine est plus facile à lire et donc c'est la méthode préférée.

Pour *S. lugdunensis* et les autres staphylocoques à coagulase négative (SCN), le test à la cefoxitine doit être utilisé pour prédire la résistance à l'oxacilline.

En pratique, pour une meilleure détection de la résistance, les disques d'oxacilline (1µg) et de cefoxitine (30µg) doivent être testés simultanément au niveau de l'antibiogramme standard de *S.aureus* (**tableau 8**)

Tableau 8: Résistance de *Staphylococcus spp.* à l'oxacilline

	Oxacilline (1µg)	Cefoxitine (30µg)	Interprétation
S.aureus	≥ 13 mm	≥ 22 mm	Souche OXA S
	≤ 12 mm	≤ 21 mm	Souche OXA R
S.lugdunensis	---	≥ 22 mm	Souche OXA S
	---	≤ 21 mm	Souche OXA R
Autres SCN	---	≥ 25 mm	Souche OXA S
	---	≤ 24 mm	Souche OXA R

Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecines humaine et vétérinaire) 6eme édition 2011

B-2- Examen bactériologique des selles (Coproculture)

L'examen bactériologique des selles se fait par coproculture, c'est-à-dire par ensemencement des selles sur des milieux de culture appropriés. Le but est de rechercher parmi une flore commensale très abondante soit des bactéries habituellement absentes et réputées pour leur pouvoir pathogène, soit une espèce bactérienne anormalement prédominante.

1-Prélèvement :

- Une noix de selles, dans un récipient stérile.
- Examen dans les 4 heures (conservation maximale 8 heures à 4°C).

2- Examen macroscopique :

- Noter l'aspect de la selle : purulent, présence de mucus, présence de sang.
- Sa consistance : liquide, molle, moulée.

3- Examen microscopique :

On observe les selles à l'état frais (entre lame et lamelle) et noter la présence des leucocytes des hématies et des bactéries très mobiles (*Vibrio*).

4- Ensemencement, identification

Sur chaque boîte on recherche les bactéries entéropathogènes à savoir *Shigella* spp, *salmonella* spp et *E. coli* entéropathogènes (EPEC) chez les patients moins de 02 ans (Mariani et Bingen, 2007a).

B--3- Etude cyto 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, une gélose au sang cuit, une gélose au sang frais et une gélose Mac conkey, tout en réalisant un enrichissement dans un bouillon glucosé tamponné (BGT). Après l'incubation, à partir de bouillon d'enrichissement on ensemence les mêmes milieux si la culture dans les boîtes d'origine est négative. L'incubation est faite à 35°C pendant 24H à 48H, les boîtes de GSC et GSF sont incubées dans une atmosphère enrichie de 5% à 10% de CO₂, un isolement sur une gélose Mac conkey pour les bacilles à Gram négatif oxydatif (Ploy et Denis, 2007).

I-2-5- Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles en milieu solide

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluée en utilisant des souches bactériennes isolées d'infections cliniques

A-Méthode de Microatmosphère

Les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture approprié sont ensemencées par les bactéries (13 µL d'un *inoculum* bactérien, de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland (108 UFC.mL⁻¹)) par écouvillonnage (5 à 6 souches ensemencées séparément en parallèle/boîte). D'un autre côté on dépose 2.5 ul d'HE sur un disque de papier filtre, au fond et au centre du couvercle de la boîte de Pétri. La boîte est incubée avec le couvercle en bas. Après incubation des bactéries à 37°C pendant 24 H, on observe s'il y'a croissance ou non des germes-cibles.

B- méthode de diffusion par disque

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne d'une huile essentielle. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé d'huile essentielle, sur un tapis bactérien au tout début de sa croissance et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de l'huile essentielle, est ainsi déterminé (**Figure. 10**).

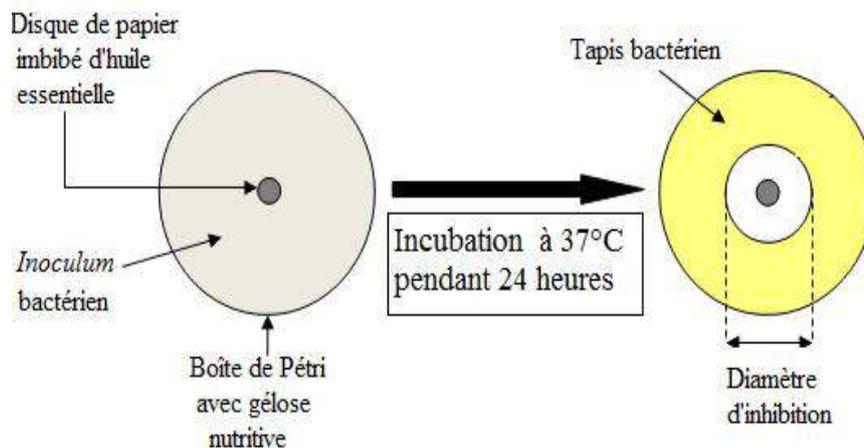


Figure 10: Principe de la méthode de diffusion par disque

Une suspension bactérienne de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland (10^8 UFC.ml^{-1}) est préparée et 20 ml de milieu gélosé milieu Mueller-Hinton sont coulés par boîte de Pétri et 500 μl d'inoculum sont déposés sur chaque boîte. Après une imprégnation de 5 minutes, l'excédent d'inoculum est éliminé par aspiration. On dépose à la surface de chaque boîte, quatre disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre (bioMérieux) imprégnés avec 5 μl d'extrait d'HE.

Deux témoins positifs sont réalisés en parallèle : l'antibiotique Vancomycin (30 μg) est utilisé comme témoin positif pour les GRAM+ et l'antibiotique l'Imipinen (10 μg) est utilisé comme témoin positif pour les Gram-.

Après diffusion de l'HE dans le milieu pendant 15 mn à une température de 30°C, les boîtes sont incubées à 37°C. La lecture s'effectue après 24 H d'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition du germe-cible.

Les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés, y compris le diamètre des disques. Cette mesure est transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité (Tableau 9) (Ponce et al., 2003 ; Biyiti et al, 2004) (tableau 10)

Tableau 9 : Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition (DI)

Inhibition	Transcription	Sensibilité
D<8 mm	-	Résistante
9mm≥D≤14mm	+	Sensible
15mm≥D≤19mm	++	Assez sensible
D≥20mm	+++	Très sensible

C-Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Cette technique consiste à inoculer, par un *inoculum* standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne.

2,5 ml de tween 80 (c'est une polysorbate, hydrophile qui oriente les émulsions dans le sens "huile dans l'eau", autrement dit qui disperse la phase huileuse dans la phase aqueuse de manière obtenir une émulsion du type HE) sont ajoutés à 90 ml d'eau distillée. L'ensemble est stérilisé à 120 °C pendant 15 mn (solution A). On prépare ensuite une solution mère contenant 9 ml de la solution (A) et 1 ml d'HE.

Dans un tube à essai, on ajoute 13 ml du milieu Mueller-Hinton à 2 ml de la solution mère. A partir cette dernière on réalise une série de dilutions en cascade dans du milieu Mueller-Hinton de manière à obtenir une gamme de concentration comprise entre 140ug.ml⁻¹ et 4,5 mg.ml⁻¹

Le tube témoin contenant 13.5 ml du milieu Mueller-Hinton et 2 ml de la solution A.

Etape d'ensemencement

13 µL d'un *inoculum* bactérien, de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland (108 UFC.mL⁻¹), sont déposés dans chacun des tubes à essai et dans le tube témoin, lesquels sont ensuite placés à 37°C, sous agitation, pendant 24 heures. Après incubation, les tubes sont centrifugés à 5 000g, pendant 5 minutes, à 20°C. La CMI de l'huile essentielle testée est déduite à partir du premier tube de la gamme dépourvu de croissance bactérienn . La technique est répétée trois fois.

II-1-Rendement :

A-Influence de la masse de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle d'*Artémisia herba alba* :

Le rendement en huile essentielle (HE) a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante.

Selon la **figure 11**, le rendement en l'huile essentielle varie en fonction de la masse de la matière végétale. Il atteint son maximum avec 100 g de plante sèche dont avec un rendement d'environ 2 %. Ce rendement diminue rapidement jusqu'à environ 1,2 % pour 150 g de plante sèche puis décroît lentement.

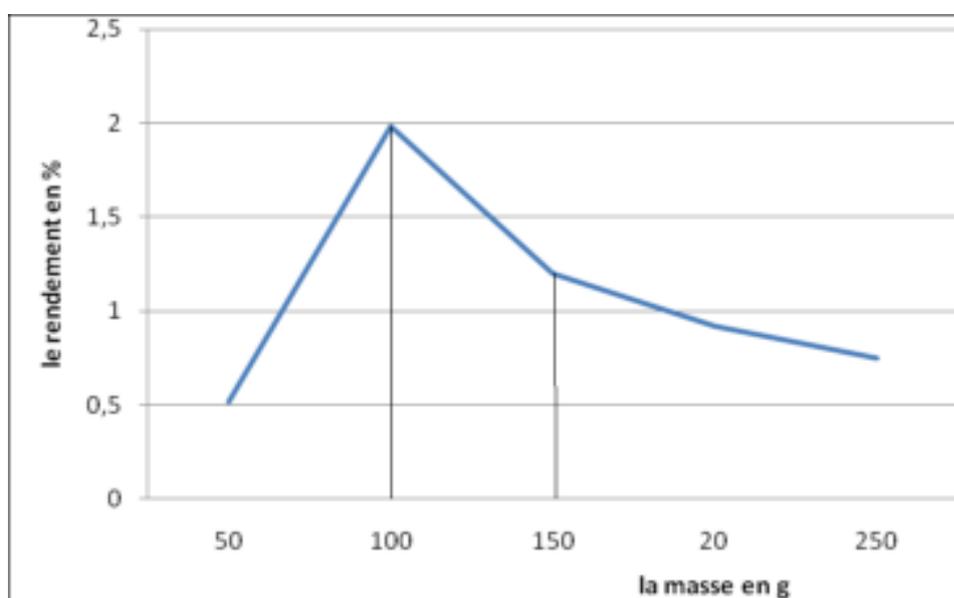


Figure 11: variation du rendement en fonction de la masse du matériel végétal. Masse de charge en (g).

Ce rendement peut être considéré comme important par rapport à celui de certaines plantes exploitées industriellement comme source d'huiles essentielles. Il est plus élevé que celui de la rose (0,1- 0,35 %), de la menthe poivrée (0,5 -1 %) et le néroli (0,5 - 1 %) et il est cependant plus faible que celui de l'anis (1-3 %), de la lavande (0,8 - 2,8 %), du romarin (1 - 2,5 %) et du thym (2 - 2,75 %) (**Edward et al. 1987**). Pour l'espèce d'armoise, ce taux est relativement supérieur à celui des HE extraites de la même espèce récoltée dans la région de Biskra (0,95 %) (**Bezza et al., 2010**), de Msila (1,02 %) (**Dob et Benabdelkader., 2006**), à celui de la Jordanie (1,3 %) (**Hudaiba et Aburjai., 2006**), et à celui de Matmata (ville Marocaine) (0,65), et il est comparable à celui de 18 provenances d'armoise blanche en Tunisie (0,68 % - 1,93 %) (**Houari., 2009**). Cette même variation infra-spécifique du

rendement d'armoise blanche a été notée en Espagne (0.41 % - 2.30 %) pour 16 échantillons de 4 provenances différentes (Salido., 2004).

Cette différence en rendement entre les armoises de différentes provenances peut être attribuée à de nombreux facteurs : le stade de croissance, les conditions pédoclimatiques et édaphiques de la région, la technique d'extraction et suivant l'état de la matière végétale (Fellah ; 2006).

B-Influence de la durée d'extraction sur le rendement :

Nous avons noté que le rendement en HE augmente régulièrement mais avec une pente de plus en plus élevée à mesure que l'on se rapproche des 3 heures de durée d'extraction où elle atteint son paroxysme à une valeur de 2 %. Cette durée de 3 heures peut donc être considérée comme le temps nécessaire pour extraire la quasi-totalité de l'huile essentielle de la plante. Ce rendement baisse par la suite très rapidement du fait probablement de l'épuisement de la plante en huile essentielle (figure 12) (Benmansour., 1999).

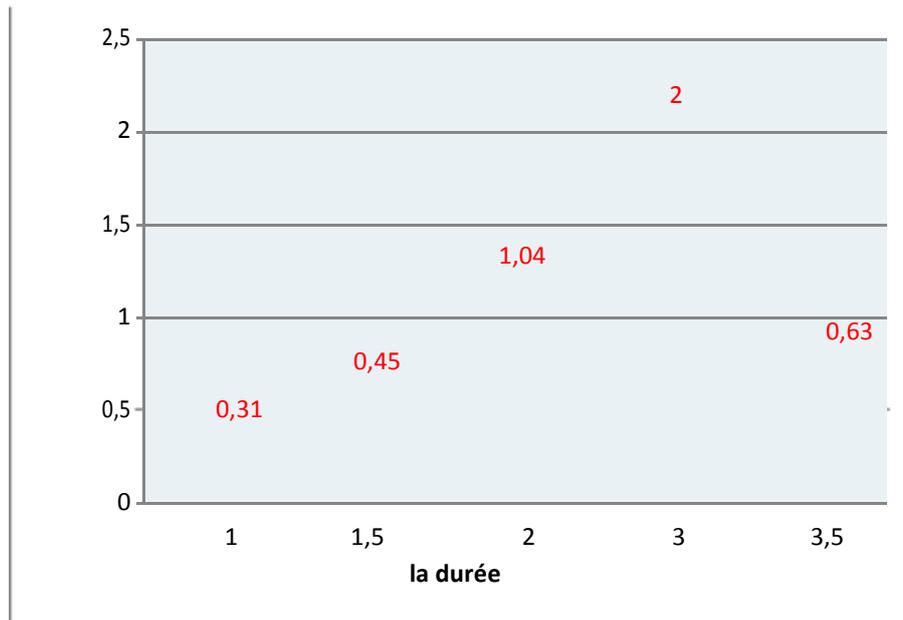


Figure 12 : Evolution du rendement en fonction du temps.

II-2-Indices physico-chimiques :

L'HE d'*Artemisia herba alba* présente un aspect, limpide et jaune foncée, Elle est caractérisée par une odeur forte. Nos résultats sont conformes aux normes (Afnor., 2000). Les indices physiques et chimiques de la plante présentent une grande similitude et sont tous compris dans les plages des normes (Afnor., 1982, 2000).

A-Indices physiques :

Les résultats des caractéristiques physiques sont représentés dans le (tableau 10) ci-dessous.

- La densité de l'HE d' *Artemisia herba alba* est de **0,914 (Afnor., 1982)**. Notre HE est de composition chimique complexe. Elle se présente sous la forme d'un mélange de carbures terpéniques, d'alcools, d'aldéhydes, de cétones et d'esters.
- L'indice de réfraction trouvé égal à **1,3333** est supérieur a celui de l'eau à 20°C, conformément aux normes citées par (Celle., 1980) et la pharmacopée française (1993).
- La miscibilité est confirmée : elle est soluble dans l'éthanol a 70° (*un volume de l'HE pour 2,5 volumes d'éthanol à 70°*) (Afnor., 2000).
- le pouvoir rotatoire est *dextrogyre* et similaire au résultat trouvé par (Bendjilali et Richard., 1982).
-

Tableau 10 : Caractéristiques physiques de l' HE d' *A herba alba*.

Caractéristiques physiques	Densité à 20°C	Pouvoir rotatoire	Indice de réfraction	Miscibilité à l'éthanol
Valeurs	0,914	+ 21,46°	1,4764	1/2,5
Normes	0,9-1 (Afnor, 1982)	Dextrogyre (Bendjilali et Richard, 1982)	1,4555-1,4788 (Celles, 1980)	

B-Indices chimiques :

Les résultats des caractéristiques chimiques sont représentés dans le (tableau11) ci-dessous.

- L'indice d'acide est un paramètre qui renseigne sur le taux d'acide gras libres existant dans une HE. La valeur obtenue est de **1,2 mg de KOH/g de corps gras**, cela signifie que notre HE possède un taux d'oxydation élevé ce qui explique sa dégradation rapide.
- L'indice d'ester est un autre paramètre qui renseigne sur la longueur des chaines d'acide libre, pour un poids donné de l'HE. Il augmente avec la diminution de la longueur des chaines. Notre HE a une valeur de **26 mg de KOH/g de l'HE**. Cette valeur est conforme à la norme Afnor (1982).

Tableau 11 : aractéristiques chimiques de l' HE d' *Artemisia herba alba*

Indices	Indice d'acide	Indice d'ester
Résultats	1,2 mg de KOH/g de corps gras	26 mg de KOH/g de l'HE
Normes		15-55 (<i>Afnor, 1982</i>)

II-3-Examen cytot bactériologique

L'étude cytot bactériologique porte sur des patients internes (hospitalisés) et externes dans des différents services des hôpitaux (CHU Mustapha Pacha de la wilaya d'Alger et CHU de Boufarik).

A-Prélèvements

Durant la période de stage, 261 prélèvements sont recueillis, dont 56% des prélèvements sont issus des patients non hospitalisés et 44% des prélèvements sont issus des patients hospitalisés.

Le taux le plus élevé est représentée par des prélèvements urinaires avec 52%, suivi par des prélèvements de pus avec 28% et des prélèvements de selles (coproculture) avec 20% (**Figure 13**).

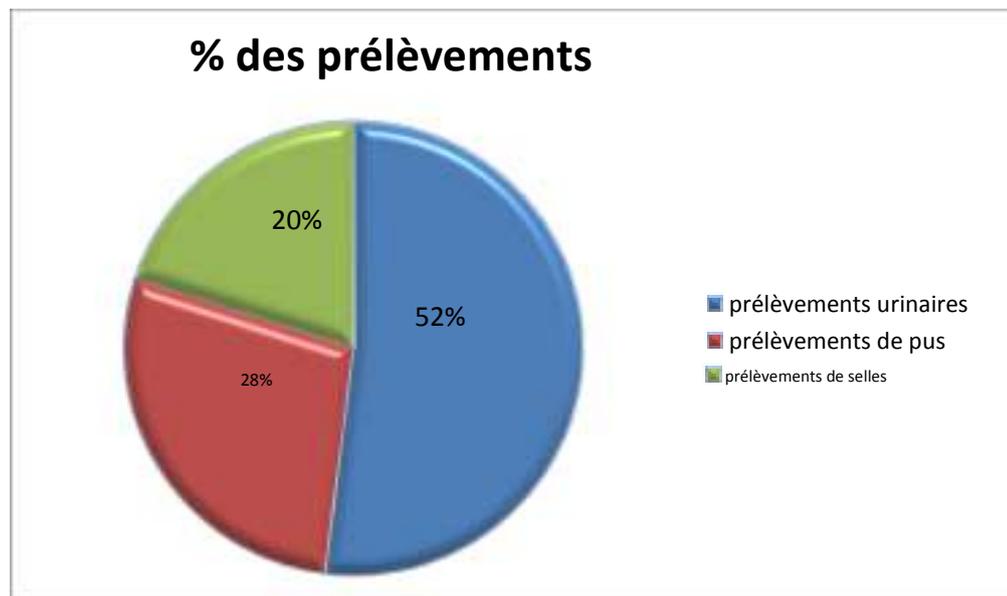


Figure 13: Taux des 03 prélèvements

Sur 261 prélèvements, 20.45% prélèvement étaient positifs, 71.45% des prélèvements étaient négatifs et 8% des prélèvements étaient à refaire (**figure 14**)

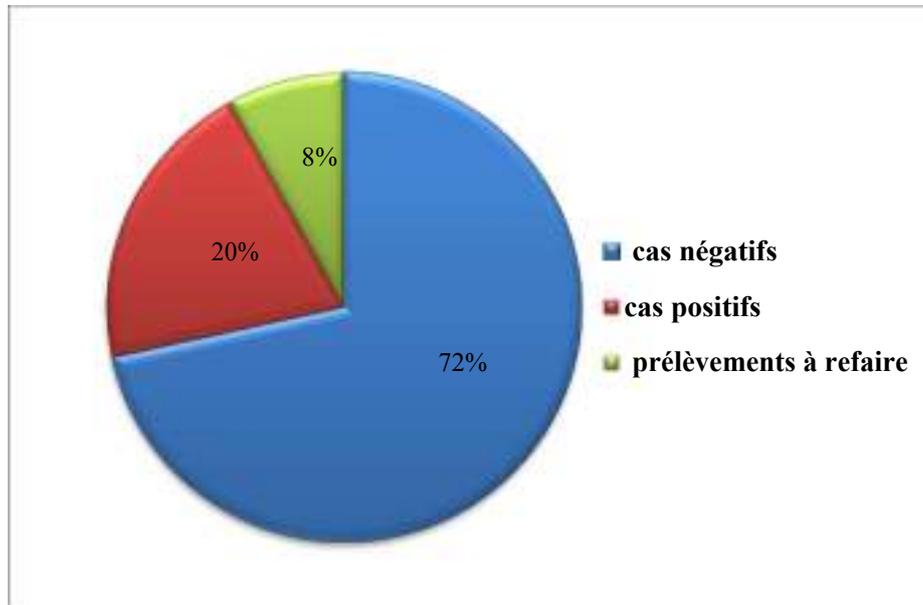


Figure 14: Répartition globale des prélèvements

B-Répartition des souches bactériennes selon leur isolement

Sur 20.45% prélèvements positifs un total de 199 bacille à Gram négatif (77%) et 59 Cocci à Gram positif (23%) ont été identifiés . Ils se répartissent en : 54% souches d'entérobactéries, 14 % d'*A. baumannii*, 19% de *P. aeruginosa*, 07% de *Staphylococcus aureus*, 03% de SARM, 02% de *Staphylococcus à coagulase négative* et 01% *Enterococcus faecium*. (**Figure 15**).

Parmi les 54 souches d'entérobactéries, la dominance a été attribuée à l'*Escherichia coli* (52%), suivie par *Klebsiella pneumoniae* (10%), *Klebsiella terrigena* (10%), *Proteus mirabilis* (07%), *Proteus vulgaris* (08%), *Salmonella thyphimurium* (06%), *Shigella sp* (02%) *Enterobacter sp* (01%), *Enterobacter cloacae* (01%) et *Citrobacter freundii* (03%) (**Figure 16**).

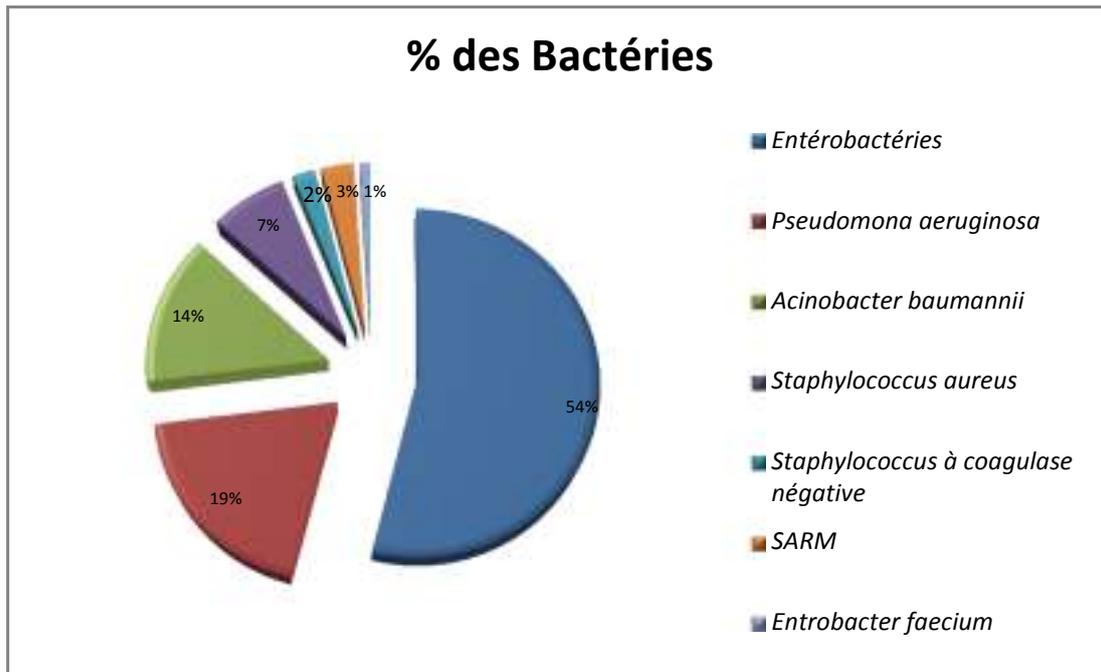


Figure15 : Répartition des bactéries selon le pourcentage d'isolement

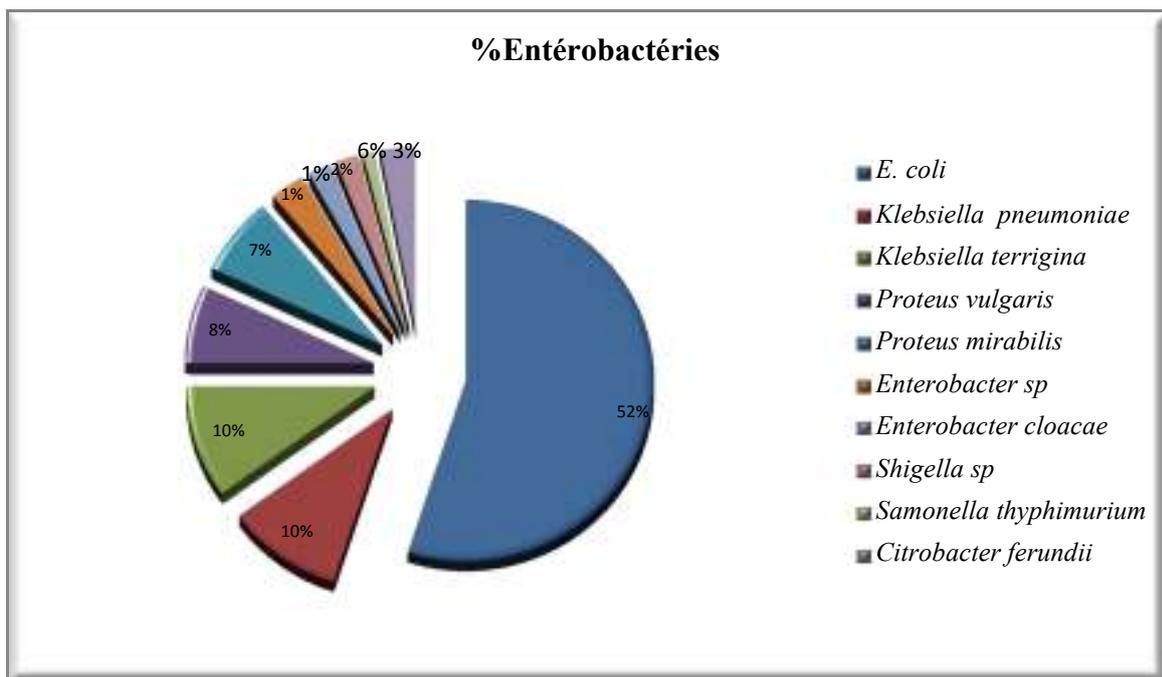


Figure 16: Répartition des entérobactéries selon les espèces

C-Résistance des entérobactéries aux antibiotiques

Sur les 258 bactéries isolées, nous avons sélectionnées 20 bactéries qui se sont révélés résistants à la plupart des antibiotiques et qui posent dans la plupart du temps un problème d'antibiothérapie. Pour ce fait ; nous avons choisi 04 bactéries Gram+ :

Staphylococcus aureus, *Staphylococcus à coagulase négative*, *SARM* et *Enterococcus faecium* dont le profil de susceptibilité aux antibiotiques est porté sur le **tableau 12(annexe)**.

Pour les bactéries Gram-, le choix a été porté surtout sur des bactéries à résistante multiple aux différentes classes d'antibiotiques et surtout vis-à-vis des céphalosporines de la deuxième et de la troisième génération. Parmi ces bactéries, nous avons choisi 02 bacilles gram- non fermentaires (*Acinobacter baumannii* et *Pseudomona aeruginosa*) et des entérobactéries multirésistantes aux antibiotiques

(Figure 17, 18 et 19).

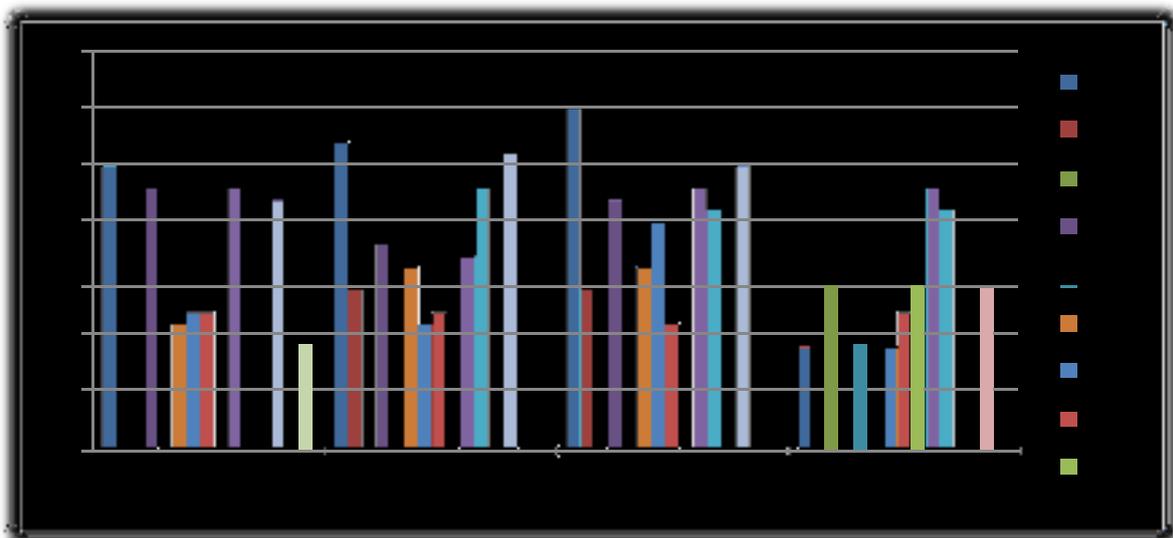
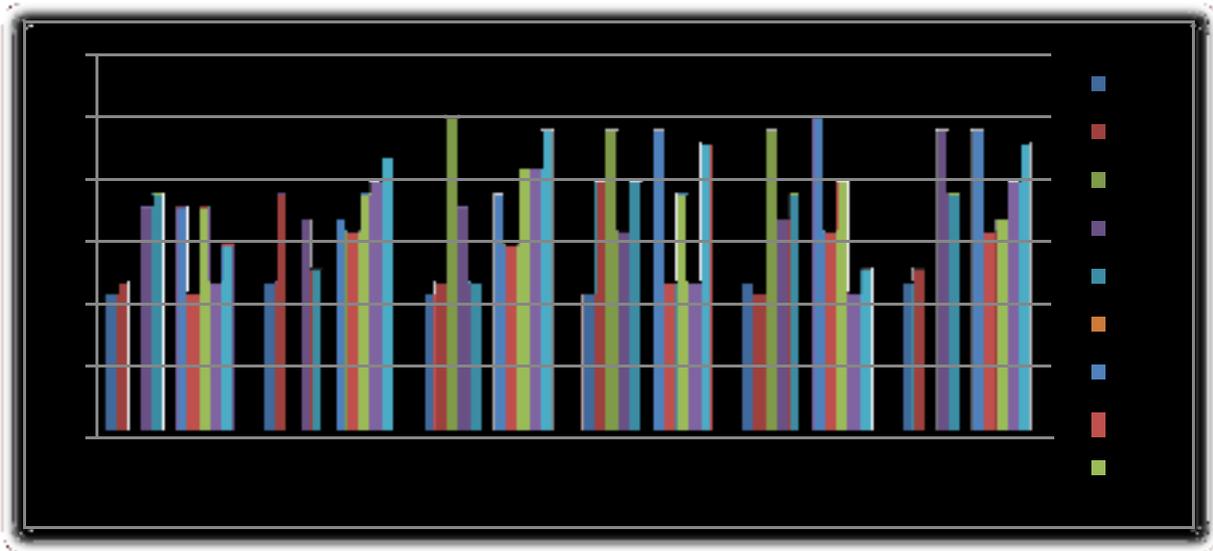
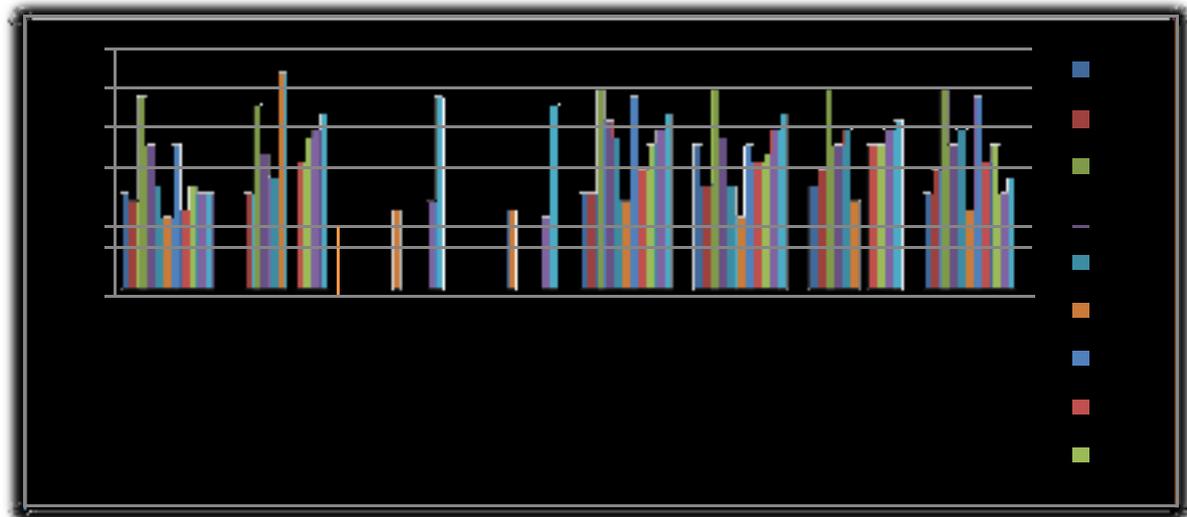


Figure 17 : résistante et sensibilité des Cocci gram+ vis-à-vis des antibiotiques



a : *Klebsiella pneumoniae* *Klebsiella terrigena* *Citrobacter freundii* *Proteus mirabilis* *Proteus vulgaris* *Salmonella thyphimurium**



b : *Enterobacter sp*, *Shigella sp(1)* *Enterobacter cloacae* *Shigella sp(2)*, *Escherichia-coli(1)* *Escherichia-coli(2)*, *Escherichia-coli(3)*, *Escherichia-coli(4)*.

Figure 18: Résistante et sensibilité des entérobactéries vis-à-vis des antibiotiques
(a, b)

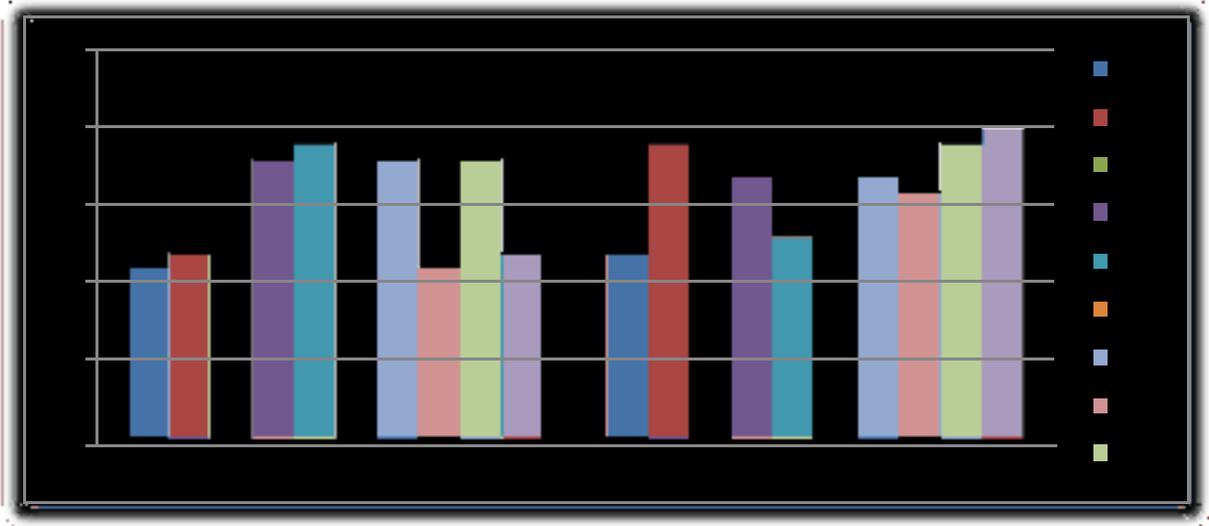


Figure 19: résistante et sensibilité des bacilles gram- non fermentaires vis-à-vis des antibiotiques

II-4-Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles en milieu solide

L'activité antibactérienne d'huile essentielle *d'Artemisia judaica L*, a été évaluée contre 20 bactéries d'origine clinique et contre 06 bactéries de référence.

Nous avons étudié la sensibilité des germes-cible vis à vis d'huile essentielle *d'Artemisia judaica L* en utilisant trois techniques différentes:

- La méthode de Microatmosphère.
- La méthode d'Antibiose.
- La méthode CMI (Concentration Minimale Inhibitrice)
- Et la méthode CMB (Concentration Minimale Inhibitrice)

II-4--1-Méthode Microatmosphère

L'huile essentielle *d'Artemisia herba alba* présentait une forte activité antibactérienne contre toutes les bactéries standards et les bactéries d'origine clinique .Seuls *P.aeruginosa* et *S. typhimurium* se sont avérés résistants (**tableau 13**).

II-4--2-Méthode d'Antibiose

L'activité antibactérienne de L'huile essentielle *d'Artemisia herba alba*. a été évaluée par la méthode de diffusion par disque. Les résultats relatifs à l'activité d'HE envers les bactéries sont rapportés dans le **tableau 13** et sont présentés dans **les figures**

20 et 21 (les diamètres des zones d'inhibitions nous ont permis d'évaluer la sensibilité ou la résistance des germes-cibles vis-à-vis de l'huile essentielle *d'Artemisia herba alba*

Les diamètres d'inhibition des bactéries Gram+, générés par l'huile essentielle *d'Artemisia herba alba* sont très nettement supérieurs à ceux produits par la VA. En effet les bactéries à Gram positif, *S.aureus* (31.33mm), *SARM* (30 mm), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (30mm), *B subtilis* ATCC 6633 (28,33mm), *Staphylocoque à coagulase négative* (28mm), étaient les souches les plus sensibles à l'huile essentielle, suivies par *S aureus* ATCC 25923 (22mm), *E faecium* (21,66mm) et *S epidermidis* ATCC 12228 (20,33 mm).

Selon **Ponce et al. (2003)** et **Biyiti et al. (2004)**, les huiles essentielles sont considérées comme actives si elles produisent des diamètres d'inhibition supérieurs ou égaux à 21 mm. De ce fait, l'huile essentielle *d'Artemisia herba alba*. présente une forte action antibactérienne contre 3 germes-cibles : *A. baumannii* (31,33 mm), *E. cloacae* (23 mm) et *P. aeruginosa* (22 mm) °. Le reste des bactéries Gram négatives (les DI ont été comprises entre 17 à 19 mm) se montrent assez sensibles à l'action inhibitrice de l'huile essentielle.

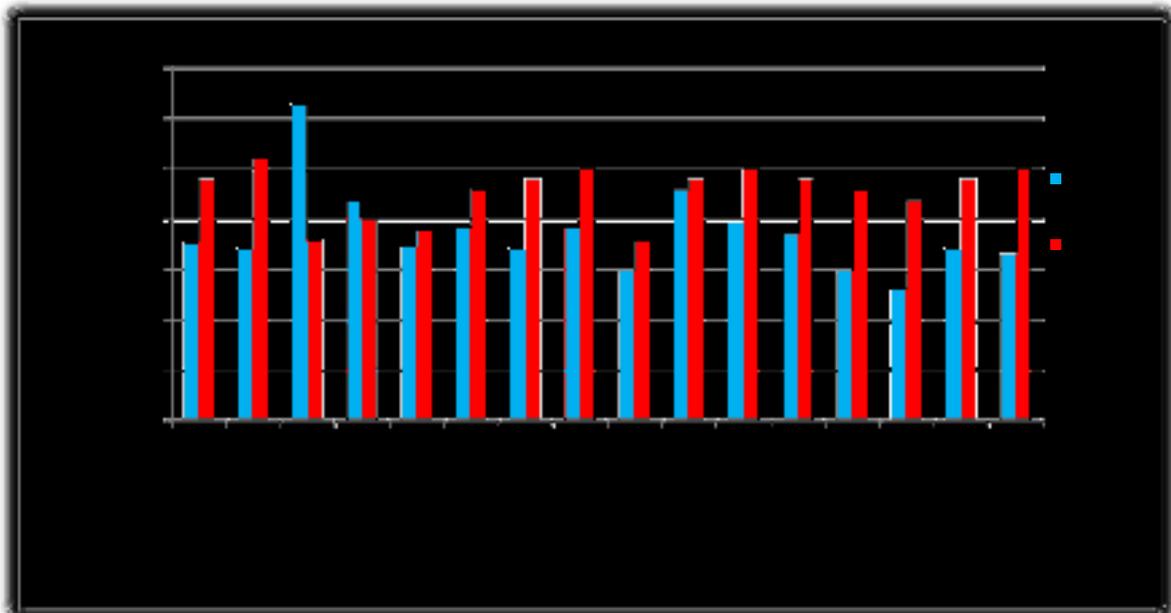


Figure 20: Activité antibactérienne de l'huile essentielle *d'A judaïca L.* et de l'imipenème vis-à-vis des Entérobactéries

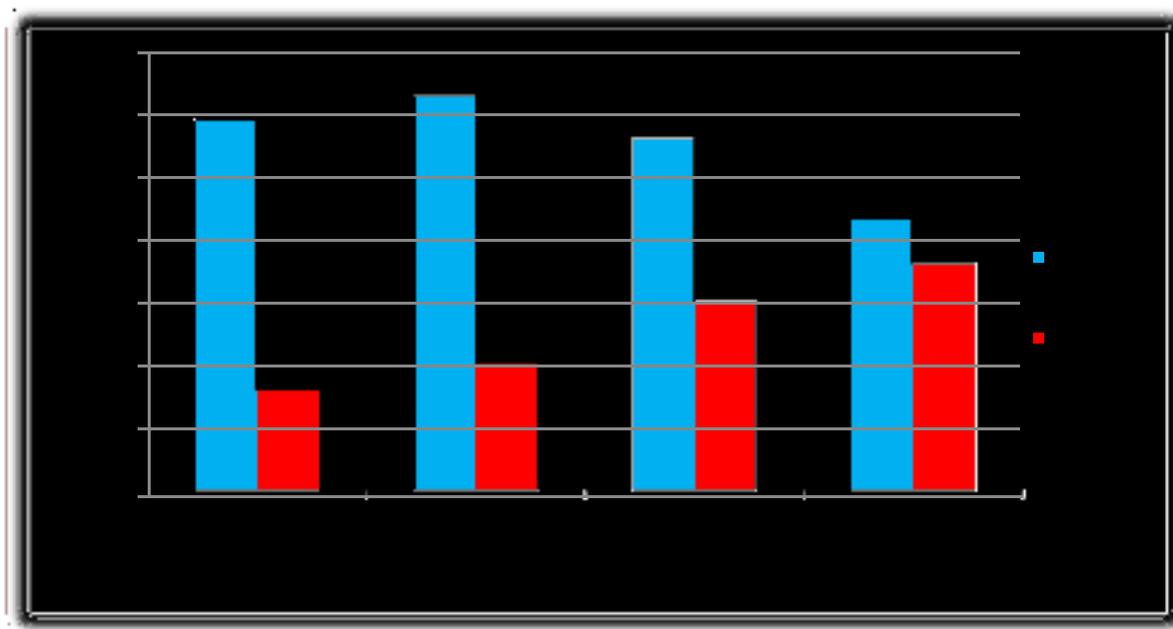


Figure 21: Activité antibactérienne de l'huile essentielle *d'Artemisia judaïca L.* et la Vancomycine vis-à-vis des Cocci Gram+

Les résultats des trois méthodes employées pour l'activité antibactérienne sont similaires (la méthode de micro atmosphère, la méthode de diffusion, et la méthode de dilution).

L'huile volatile *d'Artemisia herba alba*. n'a montré aucun effet sur la prolifération de la bactérie *P. aeruginosa* et la bactérie *S. typhimurium* en utilisant la méthode micro atmosphère. Cependant, en utilisant des procédés de diffusion et de dilution, l'huile essentielle montre un effet bactéricide sur ces deux bactéries avec des CMI qui sont respectivement égales à 70 et 35 ug/ml. Par ailleurs les bactéries *E.coli* isolées de 04 prélèvements différents se sont avéré les moins sensibles par rapport à tous les germes-cibles avec des diamètres d'inhibition allant de 13 à 15 mm dans la méthode d'antibiose. Par contre, dans la méthode CMI, elles se sont montrées très sensibles vis-à-vis de l'action inhibitrice de l'huile avec des CMI égales à 35 ug/ml.

La présente étude a montré que l'activité antibactérienne de l'huile volatile a été plus prononcée contre les bactéries Gram+ que bactéries Gram-. Ce résultat est en accord avec de nombreuses études effectuées sur d'autres espèces végétales (**Saïdana et al., 2008**).

Tableau 13 : Activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

Microorganismes	MM	MA (mm)	CMI (µg/ml)
<i>Bactéries d'origine clinique</i>			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	17,66	35
<i>Klebsiella terrigena</i>	-	17	35
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	31,33	35
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	22	70
<i>Citrobacter freundii</i>	-	17,33	35
<i>Proteus mirabilis</i>	-	19,33	35
<i>Proteus vulgaris</i>	-	17	35
<i>Salmonella thyphimurium</i>	+	19,33	35
<i>Enterobacter sp</i>	-	14,83	35
<i>Shigella sp(1)</i>	-	19,66	35
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	23	70
<i>Shigella sp(2)</i>	-	18,5	35
<i>Escherichia- coli(1)</i>	-	14,83	35
<i>Escherichia- coli(2)</i>	-	13	35
<i>Escherichia- coli(3)</i>	-	17	35
<i>Escherichia- coli(4)</i>	-	16,5	35
<i>staphylococcus aureus résistants à la méticilline (SARM)</i>	-	29,33	17,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	31,33	17,5
<i>staphylococcus à Coagulase negative</i>	-	28	17,5
<i>Enterococcus faecium</i>	-	21,66	35

MM: Méthode de Micro atmosphère, **MA:** Méthode d'antibièse, **CMI :** Concentration minimale inhibitrice ; **CMB :** Concentration minimale bactéricide, - : absence de la croissance bactérienne
+ : Présence de la croissance bactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles ainsi que leur mode d'action sont directement influencés par la nature et la proportion de leurs constituants qui entrent dans leur composition. Les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antibactérienne observée (**Dormans et Deans, 2000 ; Kalembe et Kunicka, 2003**).

Certaines études ont montré que l'ensemble des fractions volatiles ont une activité antibactérienne plus grande par rapport aux composants principaux. Ceci suggère que les composés présents dans les proportions les plus grandes sont responsables de l'activité, mais les constituants moins abondants doivent être envisagés. Pour ce faire, les effets synergiques de la diversité des constituants majeurs

et mineurs présents dans les huiles essentielles doivent être pris en considération vue leur activité biologique (**Burt, 2004**).

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle peut être expliquée par le caractère lipophile des mono terpènes contenus dans l'huile essentielle. Les mono terpènes agissent en perturbant la membrane cytoplasmique microbienne, ce qui provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire (**Sikkema et al., 1994**). Ces modifications entraînent une fuite d'ions et des composés intracellulaires (**Carson et al., 2002; Ultee et al., 2002**). Si la perte de matériel est trop importante à la survie de la bactérie, cela entraîne la mort cellulaire.

II-1-Rendement :

A-Influence de la masse de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle d'*Artémisia herba alba* :

Le rendement en huile essentielle (HE) a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante.

Selon la **figure 11**, le rendement en l'huile essentielle varie en fonction de la masse de la matière végétale. Il atteint son maximum avec 100 g de plante sèche dont avec un rendement d'environ 2 %. Ce rendement diminue rapidement jusqu'à environ 1,2 % pour 150 g de plante sèche puis décroît lentement.

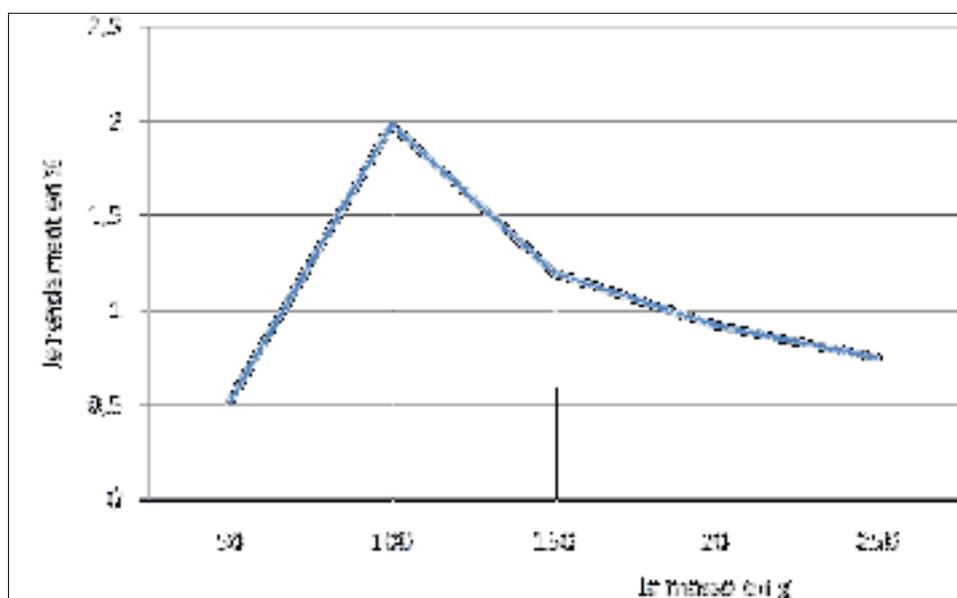


Figure 11: variation du rendement en fonction de la masse du matériel végétal. Masse de charge en (g).

Ce rendement peut être considéré comme important par rapport à celui de certaines plantes exploitées industriellement comme source d'huiles essentielles. Il est plus élevé que celui de la rose (0,1-0,35%), de la menthe poivrée (0,5-1%) et du néroli (0,5-1%) et il est cependant plus faible que celui de l'anis (1-3%), de la lavande (0,8 - 2,8%), du romarin (1 - 2,5%) et du thym (2 - 2,75%) (**Edward et al. 1987**). Pour l'espèce d'armoise, ce taux est relativement supérieur à celui des HE extraites de la même espèce récoltée dans la région de Biskra (0,95%) (**Bezza et al., 2010**), de Msila (1,02%) (**Dob et Benabdelkader., 2006**), à celui de la Jordanie (1,3%) (**Hudaiba et Aburjai., 2006**), et à celui de Matmata (ville Marocaine) (0,65%), et il est comparable à celui de 18 provenances d'armoise blanche en Tunisie (0,68% - 1,93%) (**Houari., 2009**). Cette même variation infra-spécifique du

rendement d'armoise blanche a été notée en Espagne (0.41 % - 2.30 %) pour 16 échantillons de 4 provenances différentes (Salido.,2004).

Cette différence en rendement entre les armoises de différentes provenances peut être attribuée à de nombreux facteurs : le stade de croissance, les conditions pédoclimatiques et édaphiques de la région, la technique d'extraction et suivant l'état de la matière végétale (Fellah ;2006).

B-Influence de la durée d'extraction sur le rendement :

Nous avons noté que le rendement en HE augmente régulièrement mais avec une pente de plus en plus élevée à mesure que l'on se rapproche des 3 heures de durée d'extraction où elle atteint son paroxysme à une valeur de 2 %. Cette durée de 3 heures peut donc être considérée comme le temps nécessaire pour extraire la quasi-totalité de l'huile essentielle de la plante. Ce rendement baisse par la suite très rapidement du fait probablement de l'épuisement de la plante en huile essentielle (figure 12) (Benmansour.,1999).

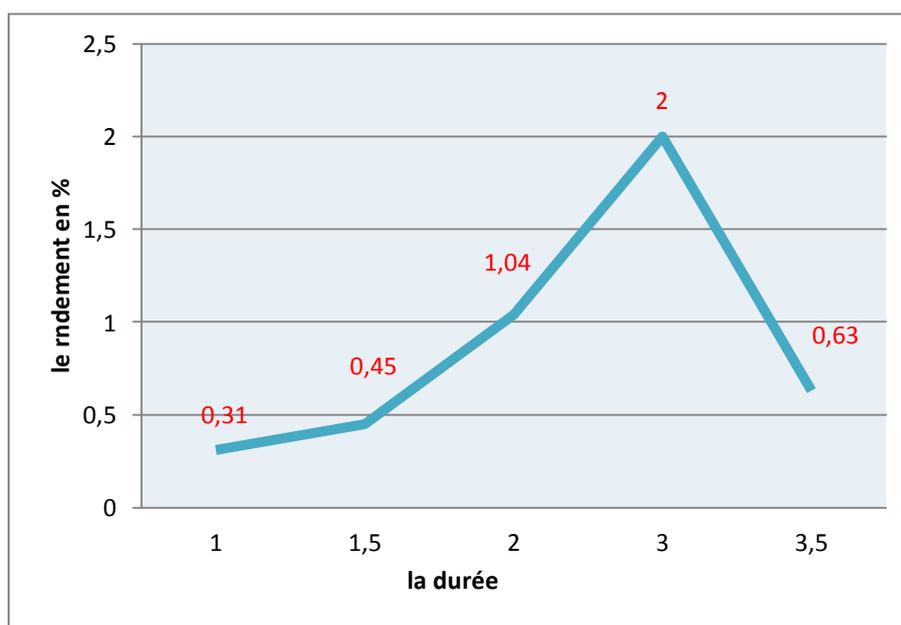


Figure 12 : Evolution du rendement en fonction du temps.

II-2-Indices physico-chimiques :

L'HE d'*Artémisia herba alba* présente un aspect, liquide et jaune foncée, Elle est caractérisée par une odeur forte. Nos résultats sont conformes aux normes (Afnor., 2000). Les indices physiques et chimiques de la plante présentent une grande similitude et sont tous compris dans les plages des normes (Afnor., 1982, 2000).

A-Indices physiques :

Les résultats relevant des caractéristiques physiques sont représentés dans le **(tableau 10)** ci- dessous.

- La densité de l'HE d' *Artemisia herba alba* est de **0,914 (Afnor., 1982)**. Notre HE est de composition chimique complexe. Elle se présente sous la forme d'un mélange de carbures terpéniques, d'alcools, d'aldéhydes, de cétones et d'esters.
- L'indice de réfraction trouvé égal à **1,3333** est supérieur a celui de l'eau à 20°C, conformément aux normes citées par **(Celle., 1980)** et **la pharmacopée française(1993)**.
- La miscibilité est confirmée : elle est soluble dans l'éthanol a 70° (**un volume de l'HE pour 2,5 volumes d'éthanol à 70°**) **(Afnor.,2000)**.
- le pouvoir rotatoire est **dextrogyre** et similaire au résultat trouvé par **(Bendjilali et Richard., 1982)**.
-

Tableau 10 : Caractéristiques physiques de l' HE d'*A herba alba*.

Caractéristiques physiques	Densité à 20°C	Pouvoir rotatoire	Indicede réfraction	Miscibilité àl'éthanol
Valeurs	0,914	+ 21,46°	1,4764	1/2,5
Normes	0,9-1 (Afnor, 1982)	Dextrogyre (Bendjilali et Richard, 1982)	1,4555-1,4788 (Celles,1980)	

B-Indices chimiques :

Les résultats des caractéristiques chimiques sont représentés dans le **(tableau11)** ci-dessous.

- L'indice d'acide est un paramètre qui renseigne sur le taux d'acide gras libres existant dans une HE. La valeur obtenue est de **1,2 mg de KOH/g de corps gras**, cela signifie que notre HE possède un taux d'oxydation élevé ce qui explique sa dégradation rapide.
- L'indice d'ester est un autre paramètre qui renseigne sur la longueur des chaines d'acide libre, pour un poids donné de l'HE. Il augmente avec la diminution de la longueur des chaines. Notre HE a une valeur de **26 mg de KOH/g de l'HE**. Cette valeur est conforme à la norme **Afnor(1982)**.

Tableau 11: Caractéristiques chimiques de l' HE d' *Artémisia herba alba*

Indices	Indice d'acide	Indice d'ester
Résultats	1,2 mg de KOH/g de corps gras	26 mg de KOH/g de l'HE
Normes		15-55 (<i>Afnor, 1982</i>)

II-3-Examen cyto bactériologique

L'étude cyto bactériologique porte sur des patients externes et des patients internes (hospitalisés) dans des différents services de hôpital (CHU de Kolea).

A-Prélèvements

Durant la période de stage, .261 prélèvements sont recueillis, dont 56% desprélèvements sont issus des patients non hospitalisés et 44% des prélèvements sont issus des patients hospitalisés.

Le taux le plus élevé est représentée par des prélèvements urinaires avec 52%, suivi par des prélèvements de pus avec 28% et des prélèvements de selles (coproculture) avec 20% (**Figure 13**).

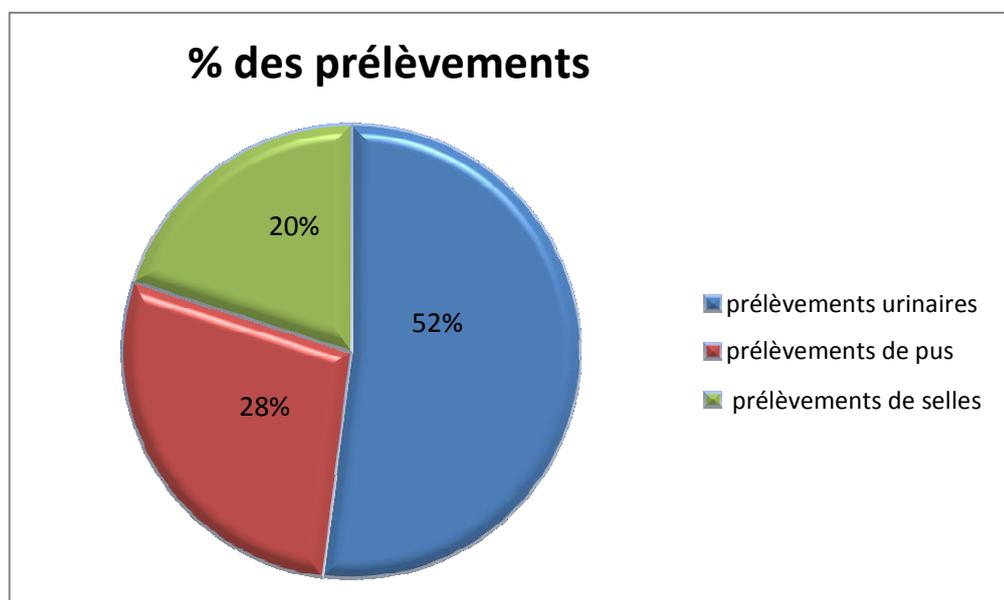


Figure 13: Taux des 03 prélèvements

Sur 261 prélèvements, 20.45% prélèvement étaient positifs, 71.45% des prélèvements étaient négatifs et 8% des prélèvements étaient à refaire (**figure 14**)

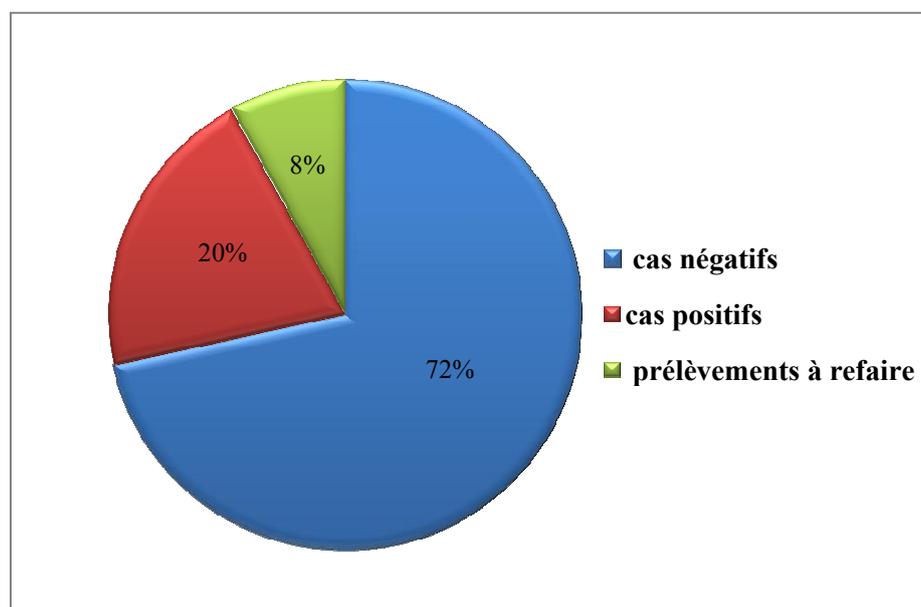


Figure 14: Répartition globale des prélèvements

B-Répartition des souches bactériennes selon leur isolement

Sur 20.45% prélèvements positifs un total de 199 bacille à Gram négatif (77%) et 59 Cocci à Gram positif (23%) ont été identifiés . Ils se répartissent en : 54% souches d'entérobactéries, 14 % d'*Acinetobacter baumannii*, 19% de *Protéus aeruginosa*, 07% de *Staphylococcus aureus*, 03% de SARM, 02% de *Staphylococcus à coagulase négative* et 01% *Enterococcus faecium*. (**Figure15**).

Parmi les 54 souches d'entérobactéries, la dominance a été attribuée à l'*Escherichia coli* (52%), suivie par *Klebsiella pneumoniae* (10%), *Klebsiella terrigena* (10%), *Proteus mirabilis* (07%), *Proteus vulgaris* (08%), *Salmonella typhimurium* (06%), *Shigella sp* (02%) *Enterobacter sp* (01%), *Enterobacter cloacae* (01%) et *Citrobacter freundii* (03%) (**Figure 16**).

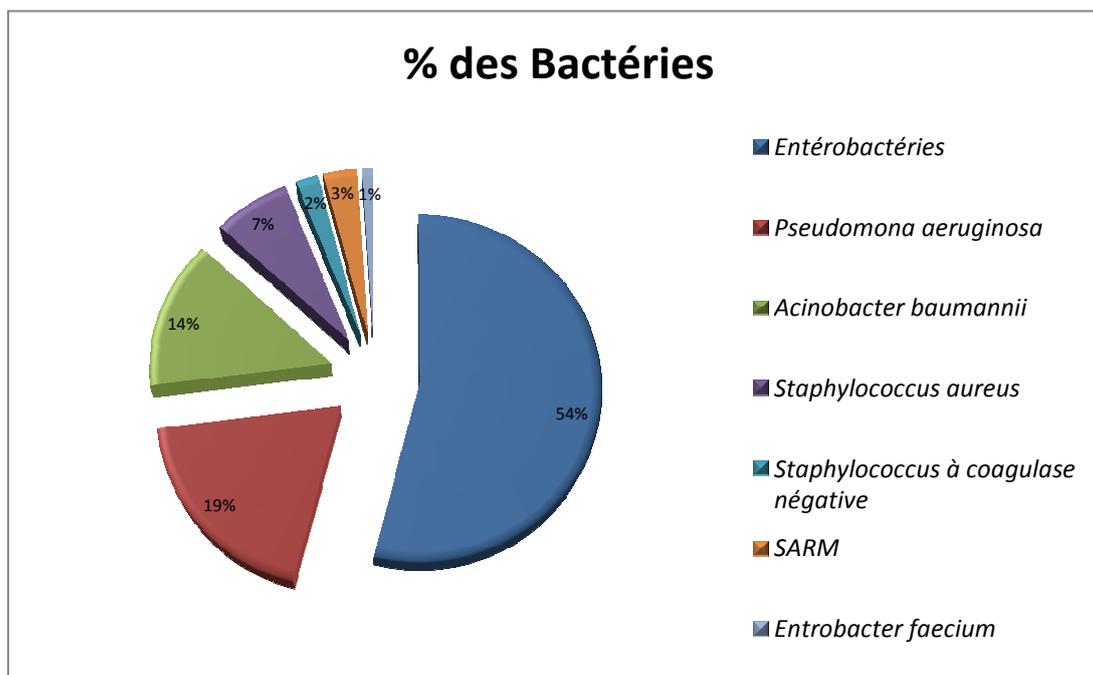


Figure15 : Répartition des bactéries selon le pourcentage d'isolement

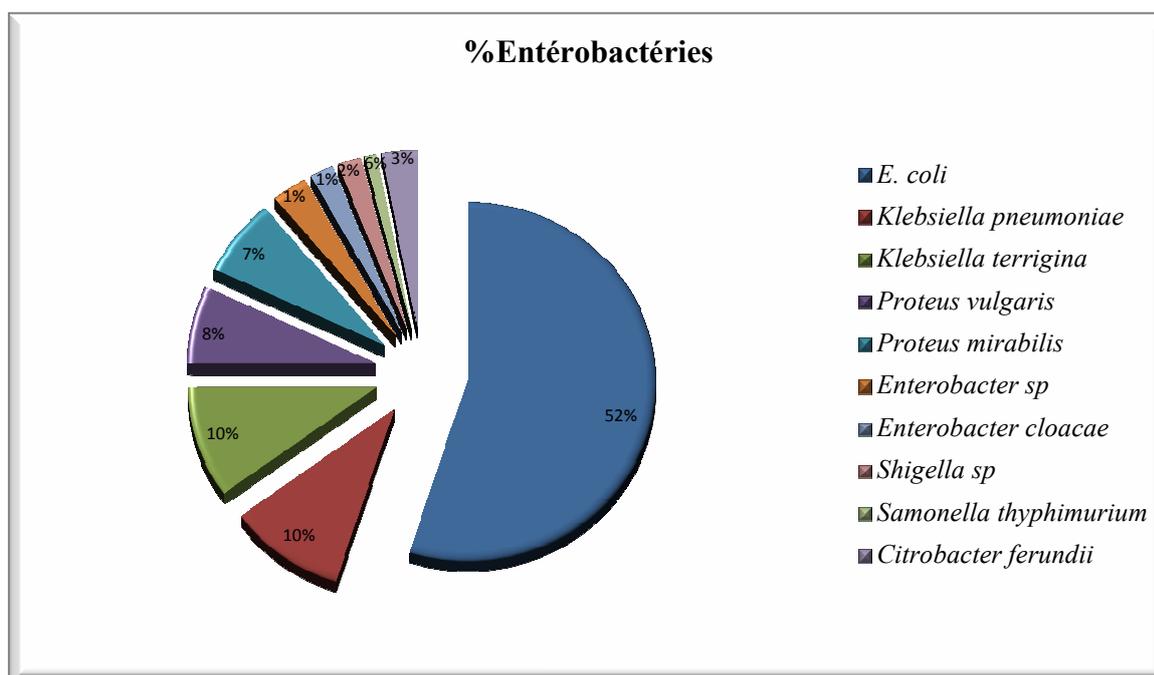


Figure 16: Répartition des entérobactéries selon les espèces

C-Résistance des entérobactéries aux antibiotiques

Sur les 258 bactéries isolées, nous avons sélectionnées 20 bactéries qui se sont révélés résistants à la plupart des antibiotiques et qui posent dans la plupart du temps un problème d'antibiothérapie. Pour ce fait ; nous avons choisi 04 bactéries Gram+ :

Staphylococcus aureus, *Staphylococcus à coagulase négative*, *SARM* et *Enterococcus faecium* dont le profil de susceptibilité aux antibiotiques est porté sur le **tableau 12(annexe)**.

Pour les bactéries Gram-, le choix a été porté surtout sur des bactéries à résistante multiple aux différentes classes d'antibiotiques et surtout vis-à-vis des céphalosporines de la deuxième et de la troisième génération. Parmi ces bactéries, nous avons choisi 02 bacilles gram- non fermentaires (*Acinobacter baumannii* et *Pseudomona aeruginosa*) et des entérobactéries multirésistantes aux antibiotiques (Figure 17, 18 et19).

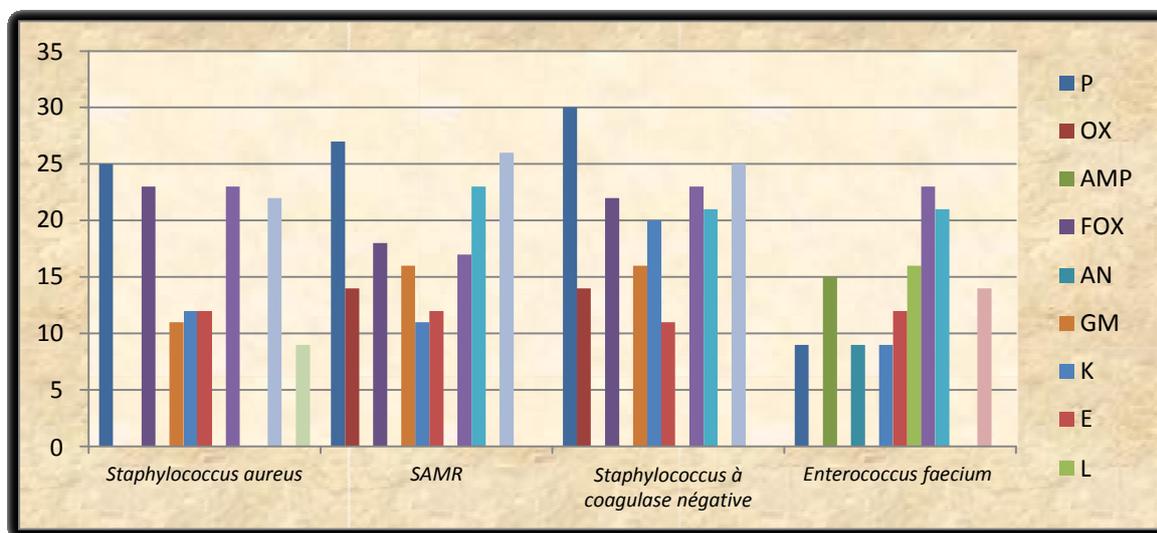
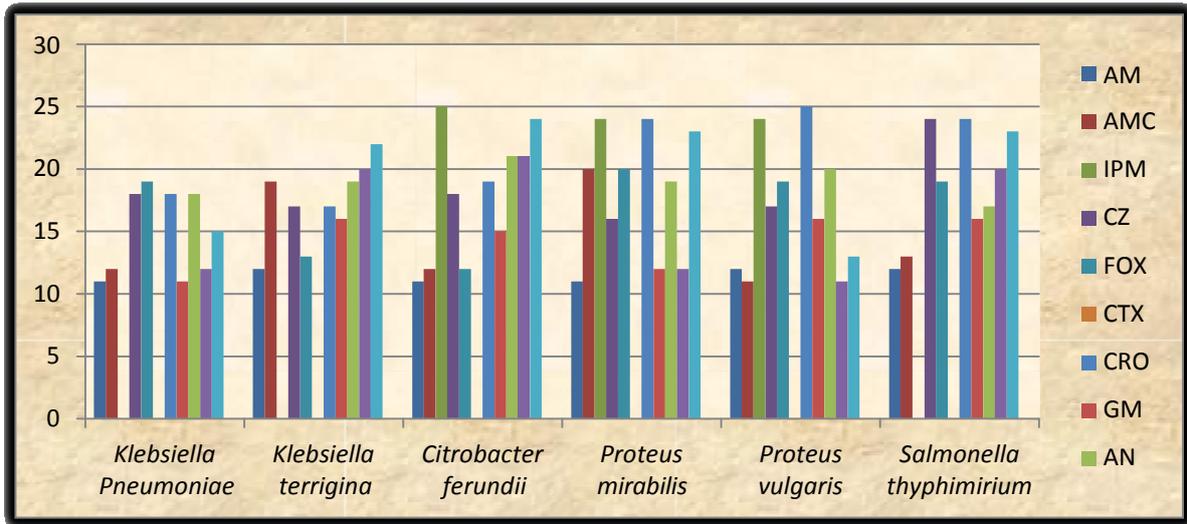
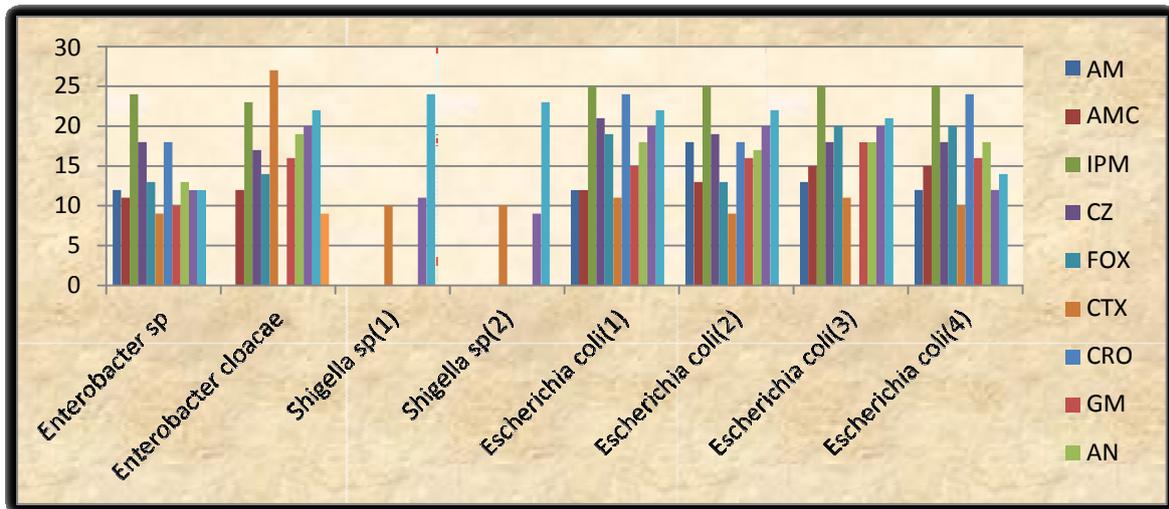


Figure 17 : résistante et sensibilité des Cocci gram+ vis-à-vis des antibiotiques



a : *Klebsiella pneumoniae* *Klebsiella terrigena* *Citrobacter freundii* *Proteus mirabilis* *Proteus vulgaris* *Salmonella thyphimirium**



b : *Enterobacter sp*, *Shigella sp(1)* *Enterobacter cloacae* *Shigella sp(2)*, *Escherichia- coli(1)* *Escherichia- coli(2)*, *Escherichia- coli(3)*, *Escherichia- coli(4)*.

Figure 18: Résistante et sensibilité des entérobactéries vis-à-vis des antibiotiques (a, b)

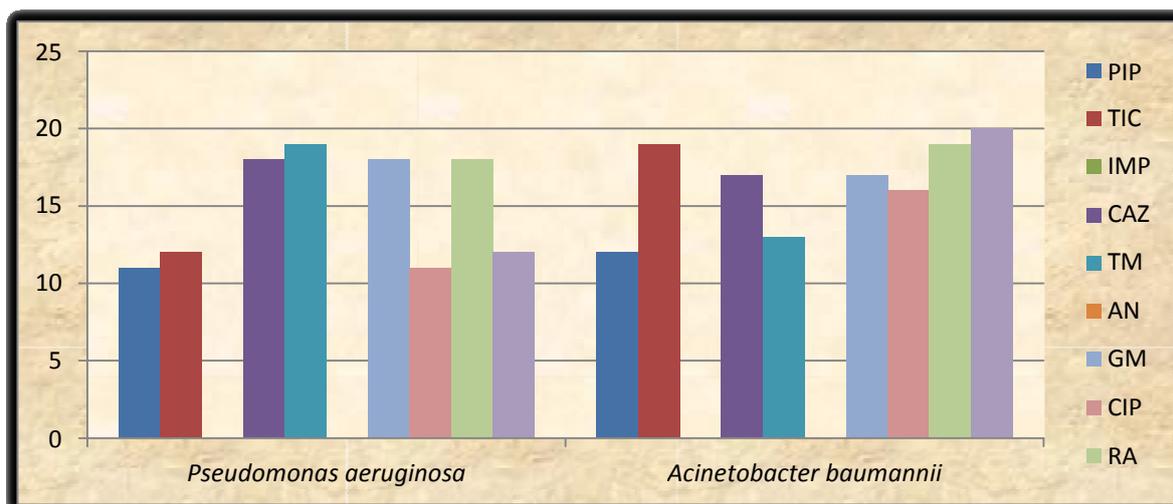


Figure 19: résistante et sensibilité des bacilles gram- non fermentaires vis-à-vis des antibiotiques

II-4-Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles en milieu solide

L'activité antibactérienne d'huile essentielle *d'Artémisia herba alba*, a été évaluée contre 20 bactéries d'origine clinique et contre 06 bactéries de référence.

Nous avons étudié la sensibilité des germes-cible vis à vis d'huile essentielle *d'Artémisia herba alba* en utilisant trois techniques différentes:

- La méthode de Micro atmosphère.
- La méthode d'Antibiose.
- La méthode CMI (Concentration Minimale Inhibitrice)

II-4--1-Méthode Micro atmosphère

L'huile essentielle *d'Artémisia herba alba* présentait une forte activité antibactérienne contre toutes les bactéries standard et les bactéries d'origine clinique. Seuls *P.aeruginosa* et *S. typhimurium* se sont avérés résistants (**tableau 13**).

II-4--2-Méthode d'Antibiose

L'activité antibactérienne de L'huile essentielle *d'Artémisia herba alba*. a été évaluée par la méthode de diffusion par disque. Les résultats relatifs à l'activité d'HE envers les bactéries sont rapportés dans le **tableau 13** et sont présentés dans les **figures**

20 et 21 (les diamètres des zones d'inhibitions nous ont permis d'évaluer la sensibilité ou la résistance des germes-cibles vis-à-vis de l'huile essentielle *d'Artemisia herba alba*). Les diamètres d'inhibition des bactéries Gram+, générés par l'huile essentielle *d'Artemisia herba alba* sont très nettement supérieurs à ceux produits par la VA. En effet les bactéries à Gram positif, *S.aureus* (31.33mm), *SARM* (30 mm), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (30mm), *B subtilis* ATCC 6633 (28,33mm), *Staphylocoque à coagulase négative* (28mm), étaient les souches les plus sensibles à l'huile essentielle, suivies par *S aureus* ATCC 25923 (22mm), *E faecium* (21,66mm) et *S epidermidis* ATCC 12228 (20,33mm).

Selon **Ponce et al. (2003)** et **Biyiti et al. (2004)**, les huiles essentielles sont considérées comme actives si elles produisent des diamètres d'inhibition supérieurs ou égaux à 21 mm. De ce fait, l'huile essentielle *d'Artemisia herba alba*. présente une forte action antibactérienne contre 3 germes-cibles : *A. baumannii* (31,33 mm), *E. cloacae* (23 mm) et *P. aeruginosa* (22 mm) °. Le reste des bactéries Gram négatives (les DI ont été comprises entre 17 à 19 mm) se montrent assez sensibles à l'action inhibitrice de l'huile essentielle.

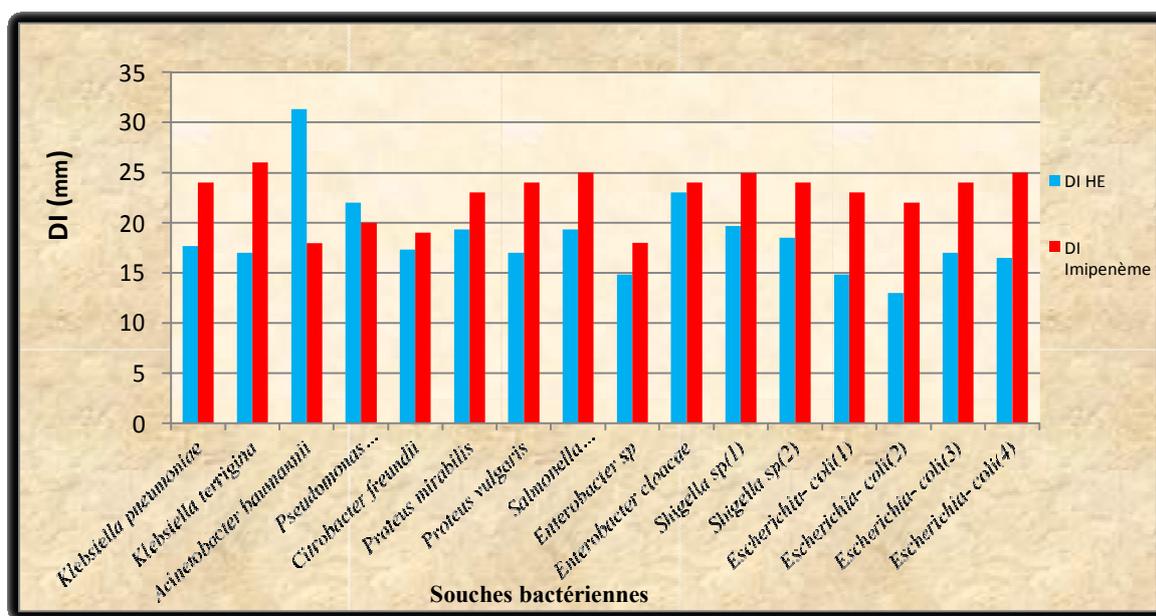


Figure 20: Activité antibactérienne de l'huile essentielle *d'A herba alba*. et de l'imipenème vis-à-vis des Entérobactéries

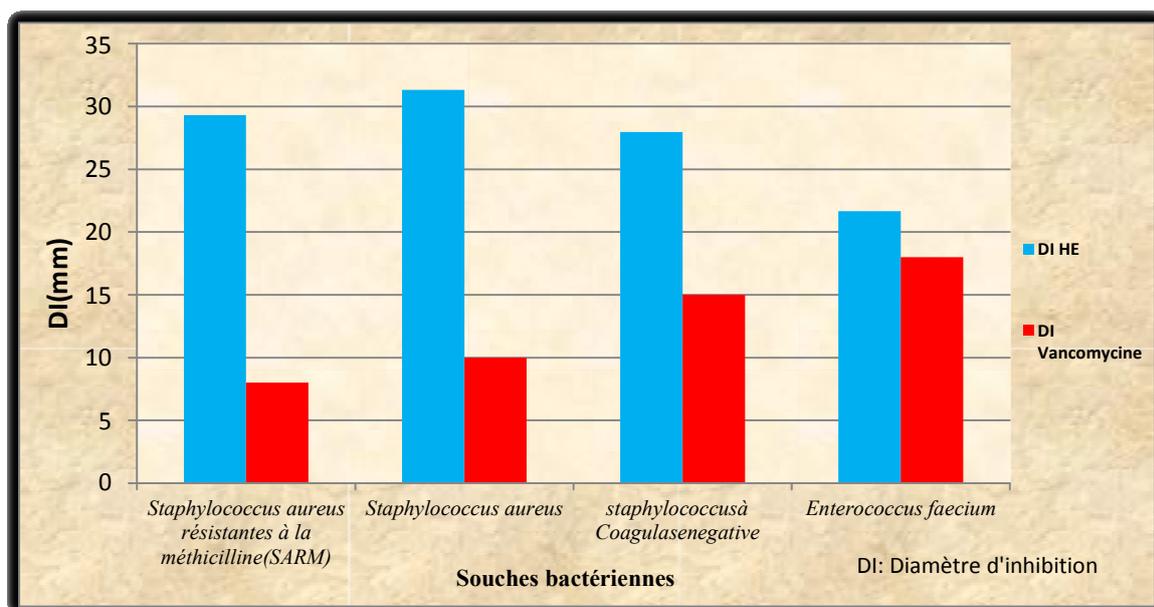


Figure 21: Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artémisia herba alba*. et la Vancomycine vis-à-vis des Cocci Gram+

Les résultats des trois méthodes employées pour l'activité antibactérienne sont similaires (la méthode de micro atmosphère, la méthode de diffusion, et la méthode de dilution).

L'huile volatile d'*Artemisia herba alba*. n'a montré aucun effet sur la prolifération de la bactérie *P. aeruginosa* et la bactérie *S. typhimurium* en utilisant la méthode micro atmosphère. Cependant, en utilisant des procédés de diffusion et de dilution, l'huile essentielle montre un effet bactéricide sur ces deux bactéries avec des CMI qui sont respectivement égales à 70 et 35 ug/ml. Par ailleurs les bactéries *E.coli* isolées de 04 prélèvements différents se sont avérées les moins sensibles par rapport à tous les germes-cibles avec des diamètres d'inhibition allant de 13 à 15 mm dans la méthode d'antibiose. Par contre, dans la méthode CMI, elles se sont montrées très sensibles vis-à-vis de l'action inhibitrice de l'huile avec des CMI égales à 35ug/ml.

La présente étude a montré que l'activité antibactérienne de l'huile volatile a été plus prononcée contre les bactéries Gram+ que bactéries Gram-. Ce résultat est en accord avec de nombreuses études effectuées sur d'autres espèces végétales (Saïdana et al., 2008).

Tableau 13 : Activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

Microorganismes	MM	MA (mm)	CMI (µg/ml)
Bactéries d'origine clinique			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	17.66	35
<i>Klebsiella terrigena</i>	-	17	35
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	31,33	35
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	22	70
<i>Citrobacter freundii</i>	-	17,33	35
<i>Proteus mirabilis</i>	-	19,33	35
<i>Proteus vulgaris</i>	-	17	35
<i>Salmonella thyphimurium</i>	+	19.33	35
<i>Enterobacter sp</i>	-	14.83	35
<i>Shigella sp(1)</i>	-	19.66	35
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	23	70
<i>Shigella sp(2)</i>	-	18.5	35
<i>Escherichia- coli(1)</i>	-	14.83	35
<i>Escherichia- coli(2)</i>	-	13	35
<i>Escherichia- coli(3)</i>	-	17	35
<i>Escherichia- coli(4)</i>	-	16,5	35
<i>staphylococcus aureus résistants à la méticilline (SARM)</i>	-	29.33	17.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	31.33	17.5
<i>staphylococcus à Coagulase negative</i>	-	28	17.5
<i>Enterococcus faecium</i>	-	21.66	35

MM: Méthode de Micro atmosphère, MA: Méthode d'antibiiose, CMI : Concentration minimale

inhibitrice - : absence de la croissance bactérienne

+ : Présence de la croissance bactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles ainsi que leur mode d'action sont directement influencées par la nature et la proportion de leurs constituants qui entrent dans leur composition. Les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antibactérienne observée (**Dormans et Deans, 2000 ; Kalemba et Kunicka, 2003**).

Certaines études ont montré que l'ensemble des fractions volatiles ont une activité antibactérienne plus grande par rapport aux composants principaux. Ceci suggère que les composés présents dans les proportions les plus grandes sont responsables de l'activité, mais les constituants moins abondants doivent être envisagés. Pour faire, l'effet synergique de la diversité des constituants majeurs

et mineurs présents dans les huiles essentielles doivent être pris en considération vue leur activité biologique (**Burt, 2004**).

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle peut être expliquée par le caractère lipophile des mono terpènes contenus dans l'huile essentielle. Les mono terpènes agissent en perturbant la membrane cytoplasmique microbienne, ce qui provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire (**Sikkema et al., 1994**). Ces modifications entraînent une fuite d'ions et des composés intracellulaires (**Carson et al., 2002; Ultee et al., 2002**). Si la perte de matériel est trop importante à la survie de la bactérie, cela entraîne la mort cellulaire.

Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et en agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

20 souches bactériennes d'origine clinique ont été isolées et identifiées à partir des urines pour déterminer l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Artémisia herba alba* vis à vis à ces souches.

L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir un rendement environ 2%. Ce rendement est important par rapport à celui de certaines plantes exploitées industriellement comme source d'huiles essentielles.

Parmi les 54% souches d'entérobactéries, la dominance a été attribuée à l'*Escherichia coli* (52%), suivie par *Klebsiela pneumoniae* (10%), *Klebsiella terrigena* (10%), *Proteus mirabilis* (07%), *Proteus vulgaris* (07%), *Salmonella thyphimurium* (06%), *Shigella* sp (02%), *Enterobacter* sp (01%), *Enterobacter cloacae* (01%) et *Citrobacter freundii* (03%)

Les 02 méthodes microbiologiques (méthode micro atmosphère et méthode d'antibiose) ont montré que L'huile essentielle d'*Artémisia herba alba* présentait une forte activité antibactérienne contre les 20 souches bactériennes d'origine clinique. Les bactéries à Gram positif, *Staphylocoque. aureus* (31.33 mm), le SARM (30 mm), *Enterobacter. faecalis* ATCC 29212 (30 mm), étaient les souches les plus sensibles vis-à-vis de l'huile essentielle

Les méthodes CMI ont dévoilé que l'huile essentielle possède un effet bactériostatique.

Au terme de ce travail, cette étude a permis d'apporter des arguments scientifiques sur les propriétés antibactériennes, ce qui confirme son utilisation en pharmacopée traditionnelle comme agent de conservation, antiseptique ou comme antibactérien.

Cette étude présente un intérêt pharmacologique dans la mesure où nos résultats constituent, avec ceux des études réalisées auparavant, une base essentielle en faveur de son utilisation dans de nombreuses préparations pharmaceutiques.

Espérons que ce travail constitue une modeste contribution car si l'on veut améliorer l'activité antibactérienne des huiles essentielles, ce qui permettra dans le futur la synthèse des molécules potentiellement actives

Références bibliographiques

- **Afnor 1982.** Association Française de normalisation, détermination ph- ϕ .
- **Afnor 2000.** Huiles essentielles. Echantillonnage et méthode d'analyse. Tome I, Paris, 93P.
- **Amhis W. 2004.** « Le genre Proteus, épidémiologie, bactériologie, résistance aux antibiotiques et biologie moléculaire ». Thèse de DESM.
- **Aidoud A ;** Les écosystèmes Armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso) .II : Phytomasse et productivité primaire .Biocénoses, (1989).2 :70-90.
- **Baba Aissa ,2000-** Encyclopédie des plantes utiles. Ed. Librairie.
- **Beck DJ, Downs DM, 1999.** Aperioplasmic location is essential for the ApeIipoproteine in thiamine synthesis in *Salmonella typhimurium*. J.Bacteriol ,181,7285-7290 .
- **Bielle L , 1935.** Précis de botanique pharmaceutique, 2ème édition , Editions médicales NorbetMaloine : 123-146.Paris.
- **Bruneton J , 1999 .** Pharmacognosie par / plantes médicinales .Ed Tec et doc , Paris PA: 207-211.
- **Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie / plantes médicinales .Tec et Doc .Lavoisier 1269 pages.
- **Burt S, 2004.** Essential oils : their antibacterial and potential application in foods a reviews . Int .J .Food Microbial .94:223-253.
- **Benjilali B ,Tantaoui-Elarki A. Ismaili- Alaoui M Ayadi,1986.** Méthodes d'études des plantes antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes Médicinales et phytothérapie,20;N°2:155-165.
- **Benjilali B.Sarris J.et Richard H. 1982 .** Nouveaux chémotypes d'*artémisia herba alba* .Sciences des aliments ; 2:515-527.
- **Berche P.Gaillard J-L Simonet M(1989)** Bactériologie : Bactérie des infections humaines .Médecine-Sciences Flammarion. ie moderne, Rouba , 368p. physico-chimiques des huiles essentielles 45-60.
- **CA-SFM,2010.** Staphylocoques Fichier staphylocoques.
- **Carson C.F.and Riley T.V.(1995).** Antimicrobial activity of the major component of the essential oil of the *Melaleuca alternifolia*. Journal of the applied Bacteriology.78: 264-269.
- **Celles JC; 1980.** Biologie et écologie végétales des régions arides. Cycle des conférences en Algérie .Labo d'écologie des régions arides .Université de Nice:1-2.

Références bibliographiques

- **CHU-PS.Pitie -Salpetriere. 2003.** Bactériologie DCEM1.Université Paris -VI Pierre et MC.faculté de Médecine Pitie -Salpetriere . Science de Bactériologie.
- **Couture B.1990.**Bactériologie médicale "Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobie et facultatives d'interet médical".
- **Cooper BS, Medly GF, sp , et al .2014.**Methicillin -résistant Staphylococcus aureus in hospitals and the community : Sleath dynamics and control catastrophes.ProcNathAcadimie science , USA, 103:5620-5625.
- **Delarras C2007.MC.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contolesanitaire .Edition technique et Documentation, Paris P248-296.
- **Denis F, Ploy MC.2007.** Bacteriologie médicale techniques usuelles. Elsevier Masson , 316-318.
- **Dob Tet Ben AbdelkaderT .2006.**Chemical Composition of the essential oil of Artemisia herbaasso grow in Algeria. J . Essential .oil .Res.18, 685-690.
- **Dorman HJ. Deans SG.2000.** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils .J ApplMicrobiology, 88;308-316.
- **Dufur JP. 2005.** les diarrhée du macaque cynomolgus (Macacafascicularus); essaie prophaxie dans un elevage de l'île Maurice.L'université Paul -Sabatier De Toulouse. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire.
- **Elenkova 1983,** Chimie analytique et méthodes physiques d'analyse. Ed.Technika Sofia: 123-128 Bulgarie.
- **EuzebyJP.2003.**Dictionnaire de Bactériologie vétérinaire .SERRATIA .sur le lien : [http:// www. bactério.cict.fr/bactacid](http://www.bactério.cict.fr/bactacid).
- **EyquenA.Alouf J , Montagnier L .1998** Traité de Microbiologie clinique " Staphylocoques" .NEVINE EL SOLH .PiccinNuova , Italie, 567-591.
- **Eymard S.2003.** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conversation et de transformation de chinchard(Trachurus), choix des procédés.Thèse de Doctorat en G énie des Procédés (Ecole Doctorale en Génie des Procédés : SpécialisésBiochimie, Nantes France.
- **Falleh H, Ksouri R, ChaibK,Karry-BouraouiN.TrabelsiN.Boulaaba M etAbdelly C.2008.**Phénolic composition of cynaraCardunculas L .Organs and theirbiologicalactivities .Comptes Rendus Biologie ,372-379.
- **Farah 2007 :**Boutefnouchet N, DekhilM ,Bouzeina N, 2007 : Klepsiellapneumoniae .Productiob de lactamases à spèctre élargi(BLSE)isolées des hopitaux de la ville d'ANNABA .Algerie .Scientific Study and Research: 3(2) (1582-5404):199-214.

Références bibliographiques

- **Fasqual R .1974.**Eléments de bactériologie médicale 9ème édition.Flammarion, Paris,27-36.
- **Fauchere JL, Avril JL.2002.**Bactériologie générale et médicale.Elippos.Paris 213-217.
- **Fourmier P.1977.**Plants médicinaux vénimeuses de France.Modes d'action des plantes selon leurs principes actifs.Paul de chevalier; TOME1:63-90.
- **Garrity GM, Johnson KL, Bell J, Searles DB. 2002.** Bergy's Manual of Systematic Bacteriology, second ed. Springer-verlag, New York.
- **Garrity GM, Bell J.A, Lilburn T. 2010.** Pseudomonadales. In: **Brenner DJ, Krieg NR, Staley T.** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2eme ED, 2. P: 323-441.
- **Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K. 2008.** Acinetobacter baumannii : a universal threat to public health .International Journal of Antimicrobial Agents, 32 :106-119
- **Gill AO, Holley RA. 2006.** Inhibition of membrane bound ATP ases of Escherichia coli and Listeria monocytogenes by plant oil aromatics. Int J Food Microbiol, 111: 170-174.
- **Goubou P, Pellegrins E. 2000.** Repères en microbiologie. Garant, Édition3, p116-117.
- **Helander IM, Alakomi HL, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol I, Smid EJ, Gorris LGM, Von Wright A. 1998.** Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. J Agric Food Chem, 46: 3590-3595.
- **Hudaiba M. & Aburjai T. 2006.** Composition of the essential oil from Artemisia herba-alba grown in Jordan. J. Essential Oil Res., 18, 3, 301-304.
- **Houari M et Ferchichi A.,2009.** Essentiel oil composition of Artemisia herba alba from southern Tunisia, Molecules 14 : 1585-1594.
- **Joly B, Reynaud A. 2007.** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation, Paris. p 3-182.
- **Kalemba D, Kunicka A.2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr Med Chem, 10: 813-829.
- **Killian C H., 1948.** Conditions édaphiques et réactions des plantes indicatrices de la région Alfatière. Annal Agro ; I: 56-74.
- **Kurita N. et Koike S., 1982.** Synergetic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. Agric. Chem ; 46: 159-165.

Références bibliographiques

- **Lamnaouer D. 2002.** Détermination des propriétés biologiques (activités pharmacologiques et toxicologiques) des plantes médicinales et aromatiques du PNT. Programme de l'UICN en Afrique du Nord: Phase III. Etat d'avancement. p 3-7.
- **Lambert T. 2007.** Acinetobacter. In : **Denis F, Ploy MC, Martin C, Bingen E, Quentin R.** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson, Paris. P : 344-346.
- **Larpent J P. 2000.** Introduction à la nouvelle classification bactérienne. Les principaux groupes bactériens. Ed. TEC & DOC. Paris p 280.
- **Leclerc H., 1983.** Précis de phytothérapie. Ed Masson: 14-18: Paris.
- **Laub GR. 1986.** Discovery of the sulfa drugs. South Med J, **79**: 782.
- **Le Minor L, Veron M. 1990.** Bactériologie Médicale «Staphylococcus et Micrococcus» J.Fleurette . 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 773-794.
- **Mahrouki S, BenAchour N, Chouchani C, BenMoussa M, Belhadj O.2009.** Identification of plasmid-encoded extended spectrum β -lactamases produced by a clinical strain of *Proteus mirabilis*. Pathologie Biologie, **57**: 55- 59.
- **Martin C. 2008.** Urgences et infections: Guide du bon usage des antibiotiques, antifongiques, antiviraux, antiseptiques. Editions Arnette. p : 41-42.
- **Morice V. 2003.** Chapitre 7 - Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non exigeants. Sur le lien:<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.html>.
- **Muthu C ;Ayyanar M.Raja.N.et Ignacimuthu S ; 2006-**Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuran District of Tamil Nadu , Indian.Journal of Ethnobiology and Ethnomédecine,**2** :43 doi : 10-118/1746-4269-2-43
- **Zaidi N, Donabedian SM, Balasubramaniam M, Hershberger E, Zervos MJ. 2004.** Molecular and clinical.
- **Newman DJ, Cragg GM, Snader KM . 2003.** Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. J Nat Prod, **66**: 1022-1037.
- **Niu C, Afre S, Gilbert ES. 2006.** Subinhibitory concentrations of cinnamaldehyde interfere with quorum sensing. Lett ApplMicrobiol, **43**: 489-494.
- **Newman DJ, Cragg GM, Snader KM . 2003.** Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. J Nat Prod, **66**: 1022-1037.
- **Niu C, Afre S, Gilbert ES. 2006.** Subinhibitory concentrations of cinnamaldehyde interfere with quorum sensing. Lett ApplMicrobiol, **43**: 489-494.

Références bibliographiques

- **OMS,2002:Organisation mondiale de la santé(OMS):Rapport sur la médecine traditionnelle: Besoin et Potentiel,N4-6 P**
- **Oprea SF, Zaidi N, Donabedian SM, Balasubramaniam M, Hershberger E,**
- **Zervos MJ. 2004.** Molecular and clinical.Epidemiology of vancomycin-resistant. Enterococcus faecalis. J AntimicrobChemother, 53, 626-630.
- **Peiffer B. 2000.** Dysenterie bacillaire ou shigellose. Sur le lien : <http://www.liste-hygiene.org/SHIGELLA.html>.
- **Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. 2008.** Acinetobacterbaumannii: Emergence of a Successful Pathogen. –
- **Prescott LM, Harley JP, Klein DA. 1995.**Microbiologie. De Boeck ed, p 1014
- **Ponce A.G, Fritz R, Del Valle C et Roura S.I, 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic swiss chard. Lebensmittel. Wissenschaft und technologic, 36, 679-684.
- **Quezel P, Santa S.1963.**Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, tome 2. CNRS, Paris.
- **Rath G, Ndonzao M, Hostettmann K. 1995.** "Antifungal anthraquinones from Morindalucida." International journal of pharmacognosy, 33: 107-114.
- **Robert-Demuet S, 1995.** Méthodes de dilutions. In Antibiotiques et antibiogrammes, Montréal-Canada.Robert-Demuet.
- **Segal R., Feuerstein I. et Danin A., 1987.**Chémotypes of Artemisia herbaalba in Israel based on their sesquiterpene lactone and essential oil constitution. Biochemical Systématique and Ecology; 15, N°4: 411-416.
- **Singh SB, Barrett JF.2006.** Empirical antibacterial drug discovery □□ foundation in natural products. BiochemPharmacol, 71: 1006-1015.
- **Spicer WJ. 2003.** Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 28-29.
-
- **Thoroski J, Blank G, Biliaderis C. 1999.** Eugenol induced inhibition of extracellular enzyme production by Bacillus cereus. J Food Prot, 52: 399-403.
- **Tindall BJ, Grimont PAD, Garrity GM, Euzéby J. 2005.** Nomenclature and taxonomy of the genus Salmonella, Int. J. Syst. Evol. Microbiol; 55: 521-524.

Références bibliographiques

- **Trombetta D, Castelli F, Sarpietro MG, Venuti V, Cristani M, Daniele C, Saija A, Mazzanti G, Bisignano G. 2005.** Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 2474-2478
- **Ultee A, Bennik MH, Moezelaar R. 2002.** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*, **68**: 1561-1568.
- **Ultee A, Smid EJ. 2001.** Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *Int J Food Microbiol*, 64: 373-378.
- **Valnet J., 1984.** Aromathérapie: traitement des maladies par les essences des plantes. Ed. Maloine S.A; N°10: 23-178.
- **Weill FX. 2009.** Salmonella: épidémiologie, typage et résistance aux antibiotiques. Centre national de référence des Salmonella Laboratoire des bactéries pathogènes émergentes. Institut Pasteur Elsevier Masson SAS. *Revue Francophone des Laboratoires*, Supplément au N°409 : 25.

Tableaux des valeurs critiques des diamètres d'inhibition des bactéries

Tableau I: Valeurs critiques des diamètres d'inhibition pour *Acinetobacter baumannii*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Résistant	Sensible
Pipéracilline (PIP)	100 µg	≤17 mm	≥21 mm
Ticarcilline(TI C)	75 µg	≤14 mm	≥ 20 mm
Imipénème (IPM)	10 µg	≤13 mm	≥ 16 mm
Ceftazidime (CAZ)	30 µg	≤14 mm	≥ 18mm
Tobramycine (TM)	10 µg	≤12 mm	≥ 15 mm
Amikacine (AN)	30 µg	≤14 mm	≥ 17 mm
Gentamicine (GM)	(10 µg)	≤12 mm	≥15 mm
Ciprofloxacine (CIP)	5 µg	≤15 mm	≥21 mm
Rifampicine (RA)	30 µg	<14 mm	≥19 mm
Aztréonam (ATM)	30 µg	≤15 mm	≥22 mm
Colistine (CS)	50 µg (La colistine est testée pour usage thérapeutique. Il faut déterminer la CMI)	CMI (ug /ml)	CMI (ug /ml)
		R	S
		>2	≤2

Tableau II: Valeurs critiques des diamètres d'inhibition pour *pseudomonas*

Pipéracilline (PIP)	100 µg	≤17 mm	≥21 mm
Ticarcilline(TI C)	75 µg	≤14 mm	≥ 20 mm
Imipénème (IPM)	10 µg	≤13 mm	≥ 16 mm
Ceftazidime (CAZ)	30 µg	≤14 mm	≥ 18mm
Tobramycine (TM)	10 µg	≤12 mm	≥ 15 mm
Amikacine (AN)	30 µg	≤14 mm	≥ 17 mm
Gentamicine (GM)	(10 µg)	≤12 mm	≥15 mm
Ciprofloxacine (CIP)	5 µg	≤15 mm	≥21 mm
Rifampicine (RA)	30 µg	<14 mm	≥19 mm
Aztréonam (ATM)	30 µg	≤15 mm	≥22 mm
Colistine (CS)	50 µg (La colistine est testée pour usage thérapeutique. Il faut déterminer la CMI)	CMI (ug /ml)	CMI (ug /ml)
		R	S
		>2	≤2

Tableau III: Valeurs critiques des diamètres d'inhibition pour Staphylocoques coagulase négative

Antibiotiques	Charge des disques	Résistant	Sensible		
Pénicilline G	10 UI	≤28 mm	≥29 mm		
Céfoxitine (FOX)	30 µg	≤24 mm	≥25 mm		
Gentamicine (GM)	10 µg	≤12 mm	≥15 mm		
Kanamycine (K)	30 ug	≤13 mm	≥18 mm		
Érythromicine (E)	15 ug	≤13 mm	≥23 mm		
Pristinamycine (PT)	5 µg	<19 mm	≥22 mm		
Acide fusidique (FA)	10 µg	≤15 mm	≥22 mm		
Triméthoprime+ Sulfamides (SXT)	1,25 µg +23,75 µg	≤10mm	≥16 mm		
Oxacilline	1ug		CMI critiques (µg/ml) R ≥0,5	CMI critiques (µg/ml) S ≤0,25	
Vancomycine (VA)	30 µg	Diamètre s critiques (mm)	Diamètre s critiques (mm)	CMI critiques (µg/ml) R ≥32	CMI critiques (µg/ml) S ≤4
		R	S	R	S
		-	-	≥32	≤4

Commentaires :

Le disque de **vancomycine** ne permet pas différencier les souches vanco « S », « I » et « R » de S.C.N., car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de la vancomycine est obligatoire

Tableau IV : Tableau de lecture des résultats de la galerie API 20 Strep

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS			
				NEGATIF		POSITIF	
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / jusqu'à 10 min (3)			
				Incolore		Rose-Rouge	
HIP	acide hippurique	0,4	hydrolyse (acide HIPpurique)	NIN / jusqu'à 10 min			
				Incolore/Bleu pâle Gris-bleuté		Bleu foncé/Violet	
ESC	esculine citrates de fer	1,16 0,152	hydrolyse β -glucosidase (ESculine)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Incolore Jaune pâle	Incolore Jaune pâle Gris clair	Noir Gris	Noir
PYRA	acide pyroglutamique- β -naphthylamide	0,0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA à LAP) (1) au besoin décoloré par éclaircissement intense			
				Incolore ou Orange très pâle		Orange	
α GAL	6-bromo-2-naphtyl- α -D-galactopyranoside	0,0376	α -GALactosidase	Incolore		Violet	
β GUR	acide naphthol-ASBl-glucuronique	0,0537	β -GIUcRonidase	Incolore		Bleu	
β GAL	2-naphtyl- β -D-galactopyranoside	0,0306	β -GALactosidase	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
PAL	2-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
LAP	L-leucine- β -naphthylamide	0,0256	Leucine AminoPeptidase	Incolore		Orange	
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune		Rouge	
				4 h	24 h	4 h	24 h
<u>RIB</u>	D-ribose	1,4	acidification (RIBose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>ARA</u>	L-arabinose	1,4	acidification (ARAbinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>MAN</u>	D-mannitol	1,36	acidification (MANnitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>SOR</u>	D-sorbitol	1,36	acidification (SORbitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>LAC</u>	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>TRE</u>	D-tréhalose	1,32	acidification (TREhalose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>INU</u>	inuline	5,12	acidification (INUline)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>RAF</u>	D-raffinose	3,12	acidification (RAFFinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>AMD</u>	amidon (2)	2,56	acidification (AMIDon)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>GLYG</u>	glycogène	1,28	acidification (GLYcoGène)	Rouge ou Orange		Jaune franc	

Tableau V : Tableau de lecture des résultats de la galerie API 20 Staph

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
Ø	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1.56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge*	jaune
FRU	D-fructose	1.4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1.4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1.4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1.4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1.32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1.36	acidification (D-MANhitol)		
XLT	xylitol	1.4	acidification (XyLITol)		
MEL	D-mélibiose	1.32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0.08	Réduction des NITrates en nitrites		
PAL	β-naphthyl phosphate	0.0244	Phosphatase ALcaline	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u> jaune violet	
VP	sodium pyruvate	1.904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> incolore-rose pâle violet-rose	
RAF	D-raffinose	1.56	acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1.4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1.32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-αD- glucopyranoside	1.28	acidification (Méthyl-αD- Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1.28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
<u>ADH</u>	L-arginine	1.904	Arginine Dihydroclase	jaune	orange-rouge
<u>URE</u>	urée	0.76	UREase	jaune	rouge-violet

Tableau VI Tableau de lecture des résultats de la galerie API20N E

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO ₃	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min incoloré rose-rouge	
			réduction des Nitrates en azote	Zn / 5 min rose incolore	
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRYPTOPHANE)	JAMES / immédiat incoloré vert pâle / jaune rose	
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUCOSE)	bleu à vert	jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCuline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD- galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-βD- Galactopyranosidase)	incoloré	jaune
GLU	D-glucose	1,56	assimilation (GLUCOSE)	transparence	trouble
ARA	L-arabinose	1,4	assimilation (ARABINOSE)	transparence	trouble
MNE	D-mannose	1,4	assimilation (MANNOSE)	transparence	trouble
MAN	D-mannitol	1,36	assimilation (MANNITOL)	transparence	trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-ACÉTYL-GLUCOSAMINE)	transparence	trouble
MAL	D-maltose	1,4	assimilation (MALTOSE)	transparence	trouble
GNT	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium Gluconate)	transparence	trouble
CAP	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPRIQUE)	transparence	trouble
ADI	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIPIQUE)	transparence	trouble
MLT	acide malique	1,56	assimilation (MALIQUE)	transparence	trouble
CIT	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITRATE)	transparence	trouble
PAC	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PHÉNYLACÉTIQUE)	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

Tableau VII: Tableau d'identification du catalogue analytique API 20E

API 20E	VAL	ORAC	ADH	13C	16O	OT	15N	UFF	TVL	18O	17	SFI	SII	MOU	14C	90S	5-R	SAC	19F	40V	25A	13V	100	1P	103	102	130	106
Dalmanella sp.1	100	0	0	85	25	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	99	0	92	99	100	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.2	99	99	0	81	75	0	0	0	0	0	0	0	100	100	10	3	3	100	0	100	1	0	99	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.3	99	99	0	0	75	0	0	0	0	0	0	0	100	99	0	3	3	0	1	100	1	0	100	1	0	100	100	100
Dalmanella sp.4	99	45	0	81	75	0	1	0	4	0	0	0	100	100	1	100	100	1	91	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.5	99	24	0	0	75	75	1	0	1	0	0	0	100	99	25	98	99	99	92	40	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.6	99	75	0	100	87	0	1	0	94	0	0	0	100	100	25	98	99	1	1	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.7	99	2	0	100	25	0	1	0	94	0	0	0	100	100	1	98	99	99	90	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.8	100	50	0	1	81	81	0	0	1	0	0	0	100	100	0	98	100	1	0	25	100	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.9	0	0	100	81	81	94	0	0	81	0	0	0	100	100	0	3	1	100	0	0	1	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.10	0	0	100	81	1	75	0	0	94	0	0	0	100	3	0	3	0	0	0	0	0	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.11	99	0	99	81	81	0	1	0	0	0	0	0	99	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.12	99	25	0	81	81	0	0	0	75	0	0	0	100	100	0	1	100	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.13	99	80	0	81	81	0	0	0	75	0	0	0	100	100	0	98	100	1	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.14	100	25	0	81	81	0	0	0	10	0	0	0	100	99	25	100	3	99	0	100	100	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.15	100	75	0	81	81	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	100	1	1	100	100	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.16	99	82	1	92	81	0	1	0	0	0	0	0	99	99	12	98	85	96	90	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.17	99	0	32	100	75	0	99	0	0	0	0	0	100	99	25	1	100	99	100	99	100	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.18	99	0	0	81	1	0	0	0	0	2	0	0	100	97	0	98	99	40	100	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.19	100	95	0	81	94	0	1	0	25	61	10	10	100	100	75	3	99	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.20	90	1	74	73	0	1	3	0	81	0	0	0	99	99	1	91	82	98	75	3	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.21	25	1	45	33	0	1	1	0	81	0	0	0	99	90	1	42	90	3	3	1	70	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.22	95	1	81	100	1	0	0	0	81	0	0	0	100	99	1	3	87	0	1	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.23	100	0	1	100	1	0	0	0	94	0	0	0	100	100	0	3	99	25	0	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.24	100	99	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	95	7	95	95	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.25	99	0	0	0	75	0	0	0	0	0	1	0	99	99	0	3	1	0	1	90	1	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.26	75	0	99	81	81	0	10	0	90	0	0	0	99	99	0	1	99	0	0	25	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.27	99	0	81	81	1	0	1	0	10	0	0	0	99	99	0	1	1	1	0	0	1	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.28	99	0	81	0	81	0	78	0	94	80	0	0	100	100	99	100	99	99	100	100	100	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.29	94	18	25	1	15	0	1	0	0	1	0	0	99	95	97	99	98	20	30	37	85	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.30	99	0	73	0	81	0	75	0	0	0	0	0	100	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.31	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	100	90	94	75	75	1	99	100	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.32	95	0	25	81	81	0	0	0	81	0	0	0	100	99	0	25	98	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.33	99	0	0	0	0	0	1	0	94	0	1	0	100	99	0	2	100	88	99	99	100	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.34	97	0	0	0	48	0	0	0	15	1	0	0	100	1	0	3	3	100	99	0	0	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.35	1	0	81	81	1	1	99	99	94	0	0	0	99	2	0	3	3	1	0	0	0	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.36	95	1	0	0	12	0	1	0	1	9	1	0	100	99	1	26	1	99	25	99	81	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.37	99	1	0	0	81	0	1	0	83	82	4	0	100	99	96	82	90	99	81	89	89	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.38	99	1	0	0	21	0	1	0	1	10	15	0	100	99	94	1	97	93	23	85	87	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.39	95	1	0	0	81	0	1	0	58	1	1	0	99	100	10	82	99	72	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.40	1	0	0	81	81	75	99	81	1	1	1	0	82	99	3	0	3	3	1	0	0	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.41	1	0	0	0	1	20	100	81	0	0	0	0	99	3	0	3	3	100	0	1	0	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.42	1	0	0	0	12	83	99	81	82	0	74	0	99	1	1	3	1	99	0	99	1	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.43	0	0	0	0	81	0	0	100	99	0	0	0	99	1	1	3	3	1	0	0	1	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.44	1	1	0	0	74	0	99	81	81	0	0	0	99	82	78	1	90	25	0	40	1	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.45	1	0	0	0	81	0	88	81	94	0	0	0	99	3	90	3	3	15	0	0	0	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.46	100	0	0	0	81	0	0	1	0	99	0	0	100	100	0	98	99	100	97	100	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.47	100	0	81	81	81	0	85	0	100	85	0	0	100	100	99	100	100	100	100	100	100	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.48	100	0	81	6	82	0	0	0	75	0	0	0	99	99	99	99	99	100	100	100	99	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.49	99	75	87	81	75	88	0	0	1	0	0	0	100	99	0	98	99	1	78	0	89	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.50	0	15	81	81	6	84	0	0	0	0	0	0	100	99	0	98	99	0	20	0	0	0	100	0	100	100	100	100
Dalmanella sp.51	0	1	100	1	0	25	0	0	0	0	0	0	100	100	0	3	1	0	0	0	100	0	100	0	100	100	100	100

Tableau VIII : Tableau d'identification du catalogue analytique API 20E (Suite)

API 20 E	W1	AMP	ADH	LDC	COO	OT	HIS	URE	TDI	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RFA	SAC	MEL	ANN	ARA	OX	NO2	NP	MKB	MEC	OF10	OFF
<i>Salmonella</i> ser. Paratyphi A	0	5	0	91	0	1	0	0	0	0	0	100	91	0	99	96	0	96	0	99	0	100	0	95	100	100	100	
<i>Salmonella</i> ser. Pullorum	0	1	75	100	0	95	0	0	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	0	0	75	0	100	0	100	100	100	
<i>Salmonella typhi</i>	0	1	99	0	0	0	0	0	0	0	0	100	99	0	99	0	0	96	0	0	0	0	100	0	97	100	100	
<i>Salmonella</i> spp.	1	98	82	93	85	83	0	0	1	0	1	99	100	40	99	86	1	90	1	99	1	100	0	95	100	100	100	
<i>Senecio</i> fuscus	99	0	0	0	100	0	0	0	0	40	90	100	100	50	99	74	99	96	100	99	0	0	92	0	100	100	100	
<i>Senecio</i> litoralis	99	0	73	91	75	0	0	0	0	0	0	100	100	97	100	99	30	99	99	99	0	0	99	0	91	100	100	
<i>Senecio</i> liquefaciens	95	1	78	91	80	0	2	0	0	99	65	100	99	80	99	2	99	72	97	97	0	0	100	0	95	100	100	
<i>Senecio</i> mansuetorum	94	0	95	95	96	0	25	0	1	70	87	100	99	85	99	1	99	80	97	25	0	0	95	0	97	100	100	
<i>Senecio</i> cutrifera f.	95	0	95	93	95	0	0	0	96	90	99	100	99	98	99	96	99	96	99	99	0	0	99	0	100	100	100	
<i>Senecio</i> cutrifera f. 2	95	0	96	1	95	0	0	0	96	90	99	100	99	99	99	99	1	99	99	95	0	0	99	0	100	100	100	
<i>Senecio</i> plurivulva	99	0	0	0	85	0	0	0	0	85	90	100	99	70	70	1	99	85	98	90	0	0	99	0	90	100	100	
<i>Senecio</i> rubens	99	0	90	0	92	0	1	0	0	71	82	99	99	75	1	3	99	95	99	99	0	0	100	0	85	100	100	
<i>Shigella</i> spp.	1	0	0	1	0	0	0	0	29	0	0	99	93	0	7	7	1	20	0	98	0	0	100	0	100	100	100	
<i>Shigella</i> sonnei	96	0	0	93	0	0	0	0	0	0	0	99	99	0	1	75	1	1	0	99	0	0	100	0	100	100	100	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	90	0	0	91	0	0	98	0	58	5	0	99	99	25	99	1	99	4	75	75	0	0	98	0	2	100	100	
<i>Yersinia fredericookii</i> /Yersinia	99	0	0	75	1	0	99	0	99	1	0	100	99	25	99	99	99	1	99	99	0	0	98	0	5	100	100	
<i>Yersinia kristensenii</i>	90	0	0	91	0	0	99	0	97	0	0	100	99	10	99	0	0	0	99	99	0	0	98	0	5	100	100	
<i>Yersinia pestis</i>	88	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	99	99	0	70	0	0	0	90	90	0	0	47	0	0	99	100	
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	98	0	0	0	1	0	98	0	0	0	0	99	97	0	0	75	0	98	25	98	0	0	95	0	0	100	100	
<i>Aeromonas hydrophila</i> gr. 1	98	98	25	1	25	0	0	0	95	25	90	99	99	1	3	5	97	1	75	75	100	0	97	0	95	99	99	
<i>Aeromonas hydrophila</i> gr. 2	99	97	80	1	80	0	0	0	95	80	97	97	99	9	9	1	80	1	75	5	100	0	97	0	95	99	99	
<i>Aeromonas salmonicida</i> ssp. salmonicida	1	88	1	0	0	0	0	0	1	0	75	90	94	0	0	0	0	0	1	0	100	0	98	0	1	99	99	
<i>Erwinia</i> rishiae	1	0	0	0	0	0	0	0	94	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	100	0	0	99	99	
<i>Protobacterium densovum</i>	1	99	75	0	1	0	98	0	0	10	1	98	0	0	0	0	1	0	0	0	100	0	100	0	25	99	99	
<i>Pseudomonas ribicidus</i>	95	99	100	100	0	0	0	0	100	0	0	99	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0	95	99	99	
<i>Vibrio alginolyticus</i>	0	0	98	75	80	0	1	0	100	10	75	99	100	0	1	0	100	0	10	1	100	0	47	0	100	99	94	
<i>Vibrio cholerae</i>	98	1	94	97	75	0	0	0	99	98	92	98	98	0	0	0	94	0	5	0	100	0	96	0	100	95	99	
<i>Vibrio damsela</i>	95	99	0	0	1	0	0	0	80	0	75	75	98	0	1	0	75	0	98	75	100	0	100	0	100	99	99	
<i>Vibrio parvulus</i>	99	0	99	99	90	0	0	0	99	1	99	99	99	0	0	0	0	0	0	0	100	0	85	0	100	95	99	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0	0	100	99	90	0	1	0	100	1	75	100	99	0	0	1	1	0	12	98	100	0	83	0	100	99	99	
<i>Vibrio vulnificus</i>	99	0	91	91	25	0	0	0	99	1	99	99	75	0	0	0	1	0	99	0	99	0	94	0	100	99	99	
<i>Pasteurella aerogenes</i>	99	0	0	91	0	0	99	0	0	0	0	99	0	97	0	1	99	0	0	75	75	100	0	0	100	100	100	
<i>Pasteurella multocida</i> f.	4	0	0	25	0	0	0	0	98	0	0	29	1	0	1	0	75	0	0	0	99	0	98	0	0	2	23	
<i>Pasteurella multocida</i> f. 2	7	0	0	45	0	0	0	0	99	0	0	44	99	0	99	0	99	0	0	0	99	0	98	0	0	2	23	
<i>Pedunculus pneumatophila</i> /Morchella leucomorpha	80	0	1	93	0	0	25	0	15	7	3	95	12	12	12	1	95	1	2	1	80	0	99	0	0	9	93	
<i>Moraxella</i> (Moraxella) leucomorpha	0	0	0	0	91	0	1	0	0	5	5	99	0	0	0	0	0	99	1	99	0	0	3	0	0	91	98	
<i>Exoerythronema</i> (Exoerythronema) leucomorpha	0	0	0	0	92	0	14	1	0	25	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95	0	82	1	75	75	0	
<i>Burkholderia cepacia</i>	90	0	25	16	78	0	0	0	1	43	88	1	0	0	0	0	13	0	7	20	90	0	40	0	99	99	97	
<i>Chromobacterium violaceum</i>	0	99	0	0	75	0	0	0	14	0	99	99	0	0	0	0	10	0	0	0	99	0	75	0	99	99	99	
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	5	0	0	0	12	0	90	0	75	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0	20	0	0	97	10	
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	77	0	0	0	20	0	1	0	95	0	90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0	6	0	0	48	93	
<i>Erwinia carotovora</i>	0	0	75	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	95	0	1	1	48	
<i>Moraxella</i> (Moraxella) indologenes	0	0	0	0	90	0	75	0	1	75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0	0	0	0	94	2	
<i>Citrobacterium amarae</i>	15	0	0	0	90	0	25	1	0	15	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	42	98	99	99	47	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	99	0	0	92	0	25	0	1	75	90	0	0	0	0	0	1	10	1	25	97	0	12	98	97	100	98	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0	75	0	0	75	0	0	0	10	97	25	0	0	0	0	0	25	1	29	99	0	26	0	100	95	93	0	
<i>Pseudomonas luteola</i>	86	75	0	0	94	0	0	0	25	13	84	0	1	0	1	1	15	1	85	0	0	7	0	100	91	94	0	
<i>Pseudomonas ornithinolytica</i>	0	0	0	0	80	0	0	0	25	1	10	0	1	0	1	0	10	0	45	0	0	0	30	0	100	99	99	
<i>Wohlfahrtiella</i> spp.	1	1	0	0	87	0	1	0	15	9	9	0	0	0	1	1	1	1	1	1	93	0	48	95	99	95	48	
<i>Stenococcus</i> (Stenococcus) proteus	0	0	0	91	75	75	1	0	0	75	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	99	0	96	0	100	98	9	
<i>Streptomyces</i> (Streptomyces) natchii	70	0	75	1	75	1	0	0	0	90	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	25	1	100	91	46	

Tableau VX : Tableau d'identification du catalogue analytique API 20 Staph

API STAPH	V4,1	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
<i>Staphylococcus aureus</i>		0	100	100	95	98	88	91	80	0	0	83	97	78	1	0	97	2	90	80	80	0
<i>Staphylococcus auriculantis</i>		0	100	99	38	72	10	90	9	0	0	81	0	1	0	0	40	0	15	90	1	0
<i>Staphylococcus capitis</i>		0	100	99	80	43	22	2	36	0	0	86	23	90	0	0	50	0	1	85	35	0
<i>Staphylococcus caprae</i>		0	100	99	78	10	75	74	10	0	0	99	95	99	0	0	0	0	1	99	60	0
<i>Staphylococcus carnosus</i>		0	100	100	99	0	99	99	99	0	0	99	83	83	0	0	0	0	100	100	0	0
<i>Staphylococcus chromogenes</i>		0	100	100	99	78	100	100	13	0	0	98	98	1	0	1	100	0	31	89	95	0
<i>Staphylococcus cohnii</i> ssp <i>cohnii</i>		0	100	99	66	99	2	97	88	33	0	21	66	94	0	0	2	0	9	2	1	0
<i>Staph. cohnii</i> ssp <i>urealyticum</i>		0	100	100	99	98	98	100	94	64	0	1	94	87	0	0	0	0	98	0	99	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		0	100	99	70	99	81	2	0	0	1	80	84	68	1	0	97	4	18	73	88	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>		0	99	75	5	98	80	91	60	0	1	78	3	57	0	0	98	13	83	85	1	0
<i>Staphylococcus hominis</i>		0	98	94	41	97	50	86	28	0	1	82	27	70	1	0	97	4	50	43	84	0
<i>Staphylococcus hyicus</i>		0	100	99	99	0	87	99	0	0	0	90	90	15	0	0	99	2	93	100	68	0
<i>Staphylococcus lentus</i>		0	100	100	100	100	100	100	7	99	92	21	57	100	100	100	28	100	0	1	0	0
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>		0	100	89	88	99	66	99	0	0	0	99	16	99	0	0	100	0	90	1	50	0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		0	100	99	2	97	80	99	88	22	0	35	14	79	1	0	96	1	70	30	65	0
<i>Staphylococcus schleiferi</i>		0	100	80	100	0	1	71	0	0	0	99	97	99	0	0	0	0	94	99	0	0
<i>Staphylococcus scitulus</i>		0	99	99	99	99	70	93	98	0	0	83	67	30	0	16	95	7	68	0	0	0
<i>Staphylococcus alivulens</i>		0	100	100	57	11	95	92	73	4	0	83	27	38	0	4	97	2	90	97	84	0
<i>Staphylococcus warneri</i>		0	99	99	50	98	19	96	70	0	0	23	16	90	0	0	99	0	6	77	97	0
<i>Staphylococcus xylosum</i>		0	100	100	92	81	85	95	90	30	9	82	75	87	11	82	87	10	80	5	90	0
<i>Kocuria Anshrae</i>		0	99	96	99	90	9	84	3	0	0	8	3	93	0	0	90	12	0	0	0	97
<i>Kocuria varians</i>		0	91	92	8	1	1	8	1	0	0	75	4	8	4	8	4	0	1	1	29	95
<i>Micrococcus spp</i>		0	2	4	0	1	0	1	0	0	0	8	15	1	0	0	1	0	1	11	11	91

LA GALERIE API 20E

1- Présentation de la galerie

Galerie de **20 microtubes** prêts à l'emploi permettant de réaliser 23 tests biochimiques afin d'identifier des bacilles Gram – appartenant à la famille des ENTEROBACTERIACEAE.

Cupule



microtube contenant le milieu déshydraté (La suspension bactérienne introduite dans le tube dissout les substrats déshydratés)

2- Préparation de l'inoculum



Souche pure sur GN

Prélèvement d'une souche pure (une seule colonie)

5 ml d'ED

Suspension d'opacité **0,5** sur l'échelle de Mac Farland

3- Ensemencement de la galerie API 20 E

Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles



Pour certains caractères:

1.



Remplir de suspension le tube et la cupule
CIT, VP, GEL

2.



Remplir le tube de suspension et recouvrir d'huile de paraffine
ADH, LDC, ODC, H₂S, UREE

4- Lecture de la galerie API 20 E

- Les 10 premiers tests



Tests négatifs



Tests positifs

- Les 10 derniers tests



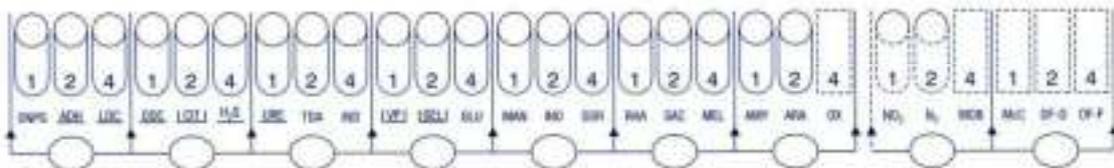
Tests négatifs



Tests positifs

5- Identification de la souche

Résultats de la galerie



Résultats reportés sur la fiche d'identification

Code n°: 5 215 773 (55)

Ident.

Se référer au catalogue pour identifier la souche à l'aide du code