

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université SAAD DAHLEB de Blida  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en biologie

Option : Phytothérapie et Santé

Thème

Étude de la sensibilité des bactéries isolées d'infections hospitalières vis-à-vis des huiles essentielles extraites de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*) récoltée dans la région de Bordj Bou Arreridj

Présenté par :

REGABI Fateh

Soutenu le : 02 juillet 2015

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> Ms Bradia	MCA	BPO	Présidente
Mme Cherif H	MCB	BPO	Examinatrice
Mlle Ghanai R	MAA	BPO	Examinatrice
Mme Benmansour N	MCB	BPO	Promotrice

Année universitaire

2013/2014

# *Dédicaces*

*A mes parents que dieu protège :*

*En témoignage de ma profonde affection. Qu'ils sachent que ce travail*

*est en partie*

*le fruit de leur soutien ; je leur suis très reconnaissante. Leur fierté à*

*mon égard aujourd'hui*

*est pour moi la meilleure des récompenses*

*A ma très chère épouse que je remercie pour son soutien et sa*

*patience.*

*A mes très chères frères et sœurs .*

*A ma seconde famille : La famille **Boukabous** pour leur soutien*

*depuis toujours, et en particulier leur mère que dieu protège.*

*A tous mes Amis (es).*

# *Remerciement*

*Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné  
la force et la patience.*

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à  
M<sup>me</sup> Benmensour*

*, maître de conférence à l'université de Blida 1 « Saad Dahlab » pour avoir  
encadré et dirigé ce*

*travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et  
la confiance*

*qu'elle m'accordé m'ont permet de réaliser ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mme Ms Bradia, maître de  
conférence à l'université*

*de Blida 1 « Saad Dahlab »(BPo) d'avoir accepté de présider le jury.*

*Je tiens également mes vifs remerciements à Mme Cherif H., maître de  
conférence à l'université*

*de Blida 1 « Saad Dahlab »(BPo) l'honneur qu'il nous a fait en acceptant  
d'examiner ce mémoire.*

*J'exprime mes vifs remerciements à Mlle Ghanai R., maître assistante à  
l'université de Blida 1 « Saad Dahlab »(BPo). pour l'honneur qu'il nous a fait  
en acceptant de faire partie de jury.*

*Aux personnels du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Boufarik pour  
leurs aides, en particulier Dr. Lassas pour leur aide.*

*Aux personnels de laboratoire d'analyses médicales de Dr. Benhellal, en  
particulier Dr. Benhellal.*

*À tous mes amis.*

*À tous les étudiants de Biologie option phytothérapie et santé. de la  
promotion 2013/2014.*

## Résumé

L'objectif de ce présent travail est la détermination du spectre antibactérien de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* récoltée dans la région de Bordj Bou Arreridj, sur une population bactérienne provenant d'infections cliniques

Les 22 souches bactériennes isolées sont : 10 *E. Coli* dont 03 espèces BLSE (Bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu), 05 *Klebsiella pneumoneae* dont 04 BLSE, *Proteus sp*, *Entérobacter cloacae*, *Enterobacter sp*, 02 *Pseudomonas aeruginosae* (Urine et Pus), *Streptocoque groupe D* (Entérocoques) et *Staphylocoques aureus à coagulasse négative* se sont révélées résistantes presque vis-à-vis à toute la gamme d'antibiotiques appartenant à plusieurs familles (Macrolides, Cyclines, Aminosides, Glycopeptides, Quinolones, Sulfamides et associés, Phenicoles, Lactamines). Cependant le seul antibiotique, Imipènème s'est montré actif vis-à-vis de toutes nos souches étudiées.

Le rendement moyen en huile essentielle (HE) de *l'Artemisia herba alba* extraite par la méthode d'Hydro distillation est de 0.63%.

La méthode de dilution en milieu liquide pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle a montré que la majorité des bactéries isolées cliniquement sont sensibles vis à vis de l'huile essentielle (Solution mère). A partir de la dilution  $10^{-1}$  -  $10^{-5}$ , toutes les bactéries cibles se sont montrées résistantes traduites par une forte croissance, sauf les souches bactériennes: *Entérobacter cloacae* et *Pseudomonas aeruginosa* (origine ECBU) ont présenté une forte sensibilité vis-à-vis de cette concentration.

**Mots clés :** L'Examen , urines , pus, antibiotiques, *Artemisia*, Huile essentielle, CMI (Concentration Minimale Inhibitrice), Activité antibactérienne, armoise blanche.

## Abstract

The objective of this present work is the determination of the antibacterial specter of *Artemisia herba alba* essential oil collected in Bordj Bou Arreridj's region, on a bacterial population resulting from clinical infections.

22 isolated bacterial strains are: 10 *E. Coli* among which 03 sorts (species) BLSE (producing bacteria extended spectrum beta-lactamases), 05 *Klebsiella pneumoneae* whose 04 BLSE, *Proteus sp*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sp*, 02 *Pseudomonas aeruginosae* (Urine and Pus), streptococcus groups D and *Staphylococcus aureus* in coagulasse denial showed itself resistant almost closed view(counterpart) in all the range of antibiotics

belonging to several families. However the only antibiotic, Imipenème showed himself active towards all our studied origins (stumps).

The average yield (efficiency) in essential oil on the *artemisia herba alba* extracted by the method of hydro distillation is 0.63 %.

The method of dilution in liquid environment (middle) to determine the inhibitive minimal concentrations (CMI) of the essential oil showed that the majority of the isolated bacteria clinically are sensitive (perceptible) face to face some essential oil (Solution mother). From the dilution  $10^{-1}$  -  $10^{-5}$ , All the target bacteria showed themselves resistant translated by a strong growth, Except bacterial strains: Enterobacter cloacae and Pseudomonas aeruginosa (origin ECBU) presented a strong sensibility towards this concentration.

**Keywords:** examination, urine, pus, antibiotics, White artemisia, Essential oil, Inhibitive Minimal concentration (CMI), Antibacterial activity.

#### الملخص :

الهدف من هذا العمل هو تحديد مجال تأثير الزيوت الاساسية لنبته الشيح *Artemisia herba Alba* التي تنمو في ولاية برج بوعريبيج كمضاد للبكتيريا الناتجة من الإصابات السريرية. من بين 22 سلالة بكتيرية معزولة هناك: *E. Coli* 10 منها 03 أنواع BLSE, *klebsiellapneumoneae* 05 منها 04 أنواع BLSE, *proteussp*, *enterobacter sp*, *enterobacter cloacae*, *pseudomonas* 02, *aerugenosae*, *Streptocoque groupe D*, *staphylocoque Aureus*, هذه السلالات أبدت مقاومة نحو اغلب المضادات الحيوية المنتمية الى عدة عائلات. لكن فقط مضاد *imipénème* أثبتت فعالية تجاه كل السلالات المدروسة. المردود المتوسط لزيوت الاساسية لنبته الشيح المستخلصة بطريقة التقطير المائي كانت في حدود 0.63%. طريقة التخفيف في وسط مائي لحساب أدنى تركيز مثبط الخاص بالزيوت الأساسية أثبت أن أغلبية البكتيريا المعزولة سريريا حساسة لهذه الزيوت (المحلول الأم). ابتداء من التركيز  $10^{-1}$  -  $10^{-5}$  كل البكتيريا المستهدفة أظهرت مقاومة تمثلت في نمو قوي ما عدا السلالات البكتيرية *entérobacter cloacae* و *pseudomonas aeruginosa* (معزولة من البول) أظهرت حساسية كبيرة اتجاه هذه التراكييز. **الكلمات المفتاحية:** الاختبارات, البول, القيح, المضادات الحيوية, الشيح, الزيوت الأساسية, أدنى تركيز مثبط, النشاط المضاد للبكتيريا.

## Liste des abréviations

**A.F.NOR** : association française de normalisation

**AK : AKN : AN** : Amikacine.

**AMC** : Amoxicilline+Acide clavulanique.

**Amin** : AMINOSIDES

**AML=AMX** : Amoxicilline.

**AMOX** : Amoxicillin

**AMP**: Ampicilline.

**ATM** : Aztreoname.

**AUG** : Augmentin (AMC+acide clavulanique).

**BLSE** : Béta lactamase à spectre élargi

**C : CHL** : Chloramphénicole.

**CAZ** : ceftazidime

**CHN** : Céfalosporine haut niveau

**CIP** : Ciprofloxacine.

**CMB** : concentration Minimale Bactéricide

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**CS : CT:CST** :Colestine.

**CT** : Céfotétan.

**CTT** : céfotétan

**CTX** : Céfotaxime

**Cyc** : CYCLINES

**CZ=CZN : KZ** :Céfazoline.

**E** : Erythromycine.

**F** : Furane (nétrofuratoine).

**FM** : famille

**FO** :Fosfomycine.

**FOX : FX** Cefoxitine.

**GEN : GMN GM : CN** :Gentamécine.

**Glyc** : Glycopeptides

**HE** : Huile Essentielle

**IMP** : Imipenème

**K**: Kanamycine.

**L**: Lincomycine.

**LVX** : Lévofoxacine.

**Macr** : MACROLIDES

**MC** : Milieu de Culture

**MH**: Milieu Muller-Hinton

**MS** : Matière Sèche

**Na =Da** : Clindamycine.

**NCBI** : National center for biotechnology information

**Nitrof** : Nitrofurantoïnes

**OFX** : Ofloxacine.

**OMS**: Organisation Mondiale de la Santé

**Phen** : PHENICOLES

**Poly** : Polypeptides

**PRL =PIP** : pipéracilline.

**PTN** : Pristinamycine.

**Quin** : QUINOLONES

**R**: Résistant.

**RIF: RD: Rifampicine.**

**S**: Sensible.

**Sulf** : sulfamides et associés

**SXT : STX** : bactrim (triméthoprine + sulfaméthoxazole).

**TE** : Tétracycline.

**TI : TIC** : Tétracycline.

**TIC** : ticarcilline

**TOB** : Tobramycine.

**TTC** : TI+ acide clavulanique.

**UFC** : Unité Format colonie.

**VA**: Vancomycine.

**βlcm**: LACTAMINES

## Liste des figures

Fig. 01: <i>Artemisia herba alba</i> .....	7
Fig. 02: Démarche de l'examen cytbactériologique de pus .....	22
Fig. 03 : Représentation schématique des quatre grandes classes de cibles antibactérienne..	38
Fig. 04 : Poudre utilisé .....	43
Fig. 05 : Montage d'hydro-distillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle. ....	44
Fig. 06 : Répartition globale d'ECBU et d'ECBP.....	53
Fig. 07 : Fréquence des bactéries isolées et identifiées des prélèvements d'ECBU et d'ECBP.....	54
Fig. 09: Résultats de l'antibiogramme.....	71
Fig. 10: Structure Noyau de $\beta$ Lactamine.....	86
Fig. 11: Structure de base de pénicilline.....	86
Fig. 12: Structure de base des céphalosporines.....	86
Fig. 13: Structure de noyau carbapèmes.....	87
Fig. 14: Structure des aminosides.....	87
Fig. 15: Structure des tétracyclines.....	87
Fig. 16: Structure des macrolides.....	88
Fig. 17: Structure des glycopeptides... ..	88
Fig. 18: Structure des rifamycines.....	88
Fig. 19: Structure des sulfamides.....	88
Fig. 20: Structure des quinolones.....	89
Fig. 21: Structure de phénicols.....	89
Fig. 22: Pesé de l'Armoise blanche broyé.....	90
Fig. 23: Densitomètre.....	90
Fig. 24: Agitateur vortex.....	91
Fig. 25: Résultats de quelques antibiogrammes.....	91



## Liste des tableaux

Tableau 01 : Principales caractéristiques physiques de quelques terpènes.....	11
Tableau 02 : Principaux mécanismes connus de résistance aux antibiotiques.....	30
Tableau 03 : Antibiotiques bactériostatiques et bactéricides.....	33
Tableau 04: Localisation et caractéristiques écologiques de la station d'étude .....	42
Tableau 05: Interprétation de l'ECBU.....	45
Tableau 06 : Pourcentage des bactéries isolées et identifiées des prélèvements d'ECBU et d'ECB de pus.....	55
Tableau 07 : Antibiogramme des germes étudiés en présence de différents antibiotiques.....	55
Tableau 08: Activité antibactérienne de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i> .....	63
Tableau 09: lecture de la galerie Api 20 E .....	79
Tableau 10: Identification et détermination des caractères biochimiques des Bactéries Gram-.....	80
Tableau 11: Identification et détermination des caractères biochimiques des Bactéries Gram+.....	82
Tableau 12: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	83
Tableau 13: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour Entérobactéries....	84
Tableau 14: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour Enterococcus spp...	85

## Table des matières

Résumés	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>Introduction</b>	2

### Première partie : Etude bibliographique

#### Chapitre I: La plante *artemisia herba alba*

I.1.Généralités	6
I.2. Description botanique	6
I.3. Systématique de la plante	7
I.4. Origine et distribution	8
I.5. Composition chimique	8
I.6.L'utilisation traditionnelle d' <i>artemisia herba alba</i>	8

#### Chapitre II: Généralités sur les huiles essentielles

II.1. Définition	11
II.2. Propriétés des huiles essentielles	11
II.3. Indication thérapeutique	12
II.4. Mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles	13
II.5. Techniques d'évaluation de l'activité antimicrobienne	14

#### Chapitre III: Généralité sur les infections urinaires et les pus

III.1.Généralité sur les infections urinaires	18
III.1.1. Définition	18
III.1.2. Principales infections des voies urinaires	18
III.1.3. Les sujets à risques élevés de l'infection urinaire	19
III.2.Généralités sur la genèse d'un pus	20
III.2.1.Facteurs favorables à l'infection suppurée	21
III.2.2.But de l'examen cyto bactériologique des pus	21
III.2.3.Démarche de l'ECB de pus	22

#### Chapitre IV: La résistance bactérienne

IV.1.Définition	24
IV.2.Description de quelques bactéries étudiées	24

IV.3. la résistance bactérienne .....	26
IV.3.1. Définition.....	26
IV.3.2. Types de résistance.....	26
IV.2.3. Phénotypes de la résistance.....	27
IV.3.4. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques .....	28

## **Chapitre V: Généralité sur les antibiotiques**

V-1. Définition.....	33
V-2. Classification des antibiotiques .....	33
V.3. Mode d'action des antibiotiques.....	38

## **Deuxième partie : Etude expérimentale**

### **Chapitre I : Matériels et méthodes**

1-Matériels utilisés.....	42
2- Méthodes.....	43
1. Extraction des huiles essentielles.....	43
2.2. Calcul du rendement.....	44
2.3. Examen cytbactériologique des urines (ECBU) .....	44
2.4. Examen cytbactériologique des pus.....	49
2.5. Activité antibactérienne.....	51

### **Chapitre II : Résultats et discussions**

II.1.Résultats.....	53
II.1.1.L'étude cytbactériologique des urines (ECBU) et ECB DE PUS.....	53
II.1.2. <i>Artemisia herba alba</i> .....	62
A. Extraction et rendement.....	62
B. Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle .....	62
II.2.Discussions.....	72
Conclusion.....	75
Annexes.....	77

Références bibliographiques



*Introduction*

### **INTRODUCTION :**

La découverte des antibiotiques constituait une véritable révolution dans la lutte contre les maladies infectieuses. Cependant, la consommation inappropriée et l'utilisation abusive d'antibiotiques ont accéléré la sélection de bactéries multi résistantes constituant actuellement un réel problème d'antibiothérapie et de santé publique. Les conséquences collectives et individuelles de ce problème sont sérieuses : la plupart des infections, qu'elles soient bénignes ou graves, sont de plus en plus difficiles à traiter (**OMS . ,2005**)

Le recours aux ressources naturelles en général et aux plantes médicinales en particulier devient alors une des plus importantes et intéressantes pistes à explorer pour la recherche de nouveaux produits antibactériens plus efficaces (**Wright et Sutherland ,2007**)

Des plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique.

Récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme alternative de santé et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles a mené des auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales (**Nostro et al., 2000**) et en raison d'une conscience croissante des effets secondaires négatifs infligés par les drogues modernes, beaucoup cherchent les remèdes normaux sans effets secondaires et bien sûr coût élevé de médecine conventionnelle (**Schnaubelt, 1998**).

Parmi les plantes médicinales ayant un intérêt thérapeutique important figure *Artemisia herba-alba* (Armoise blanche, "Chih"). Riche en huiles essentielles, cette espèce a des vertus purgatives évidentes jouant un grand rôle dans le contrôle des vers intestinaux, en particulier des ovins. Les feuilles de cette espèce sont utilisées en médecine traditionnelle pour soigner le diabète, bronchite, abcès, diarrhée et elle est utilisée comme plante vermifuge (**Le Floc'k, 1983**).

L'objectif de notre étude consiste à évaluer l'effet antibactérien des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sur une population bactérienne provenant d'infections cliniques.

Ainsi notre étude s'est répartie en deux grandes parties :

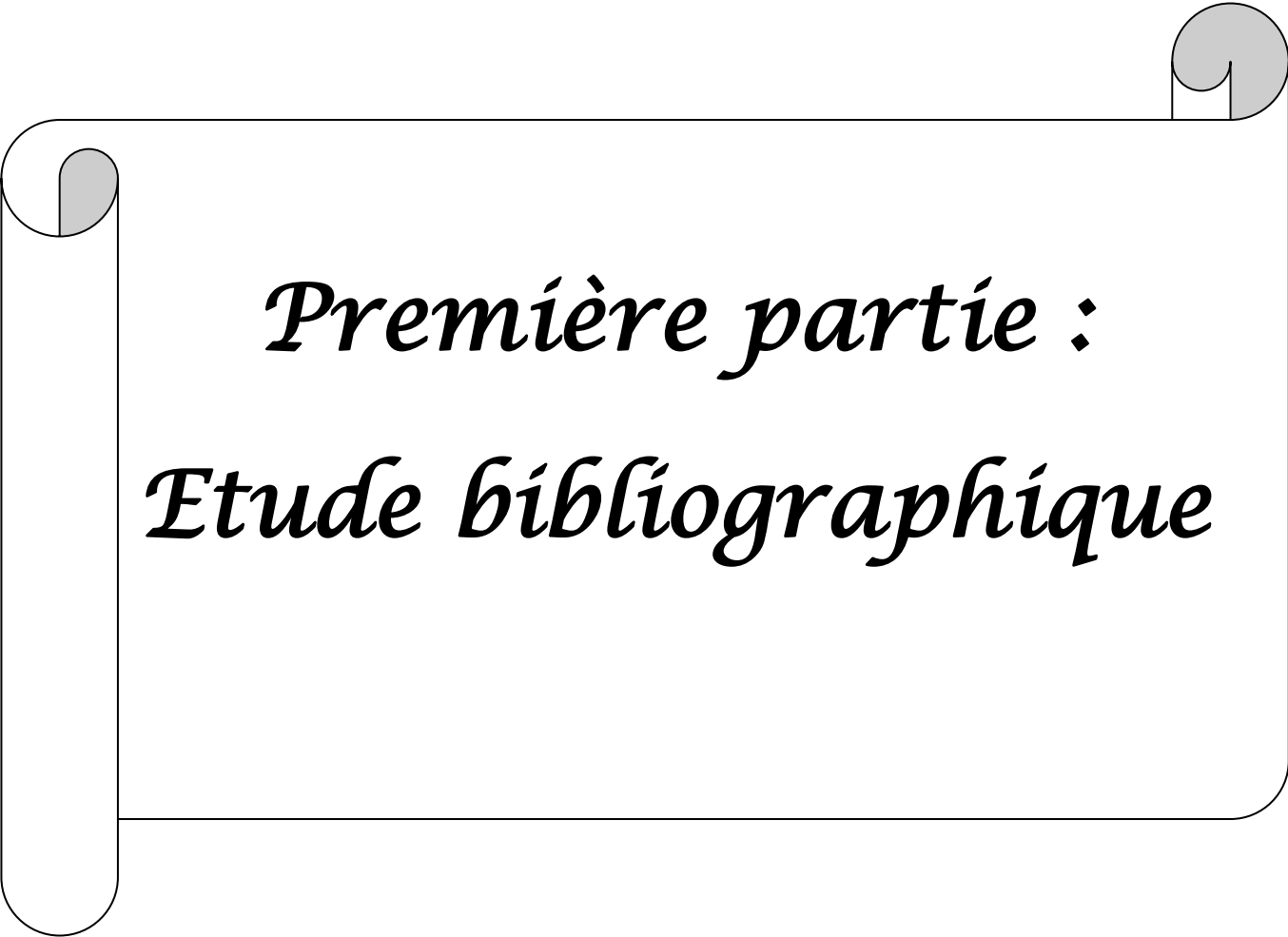
- La première partie, se base sur les rappels bibliographiques concernant la plante *Artemisia heraba alba*, les généralités sur les huiles essentielles, sur les infections

## *Introduction*

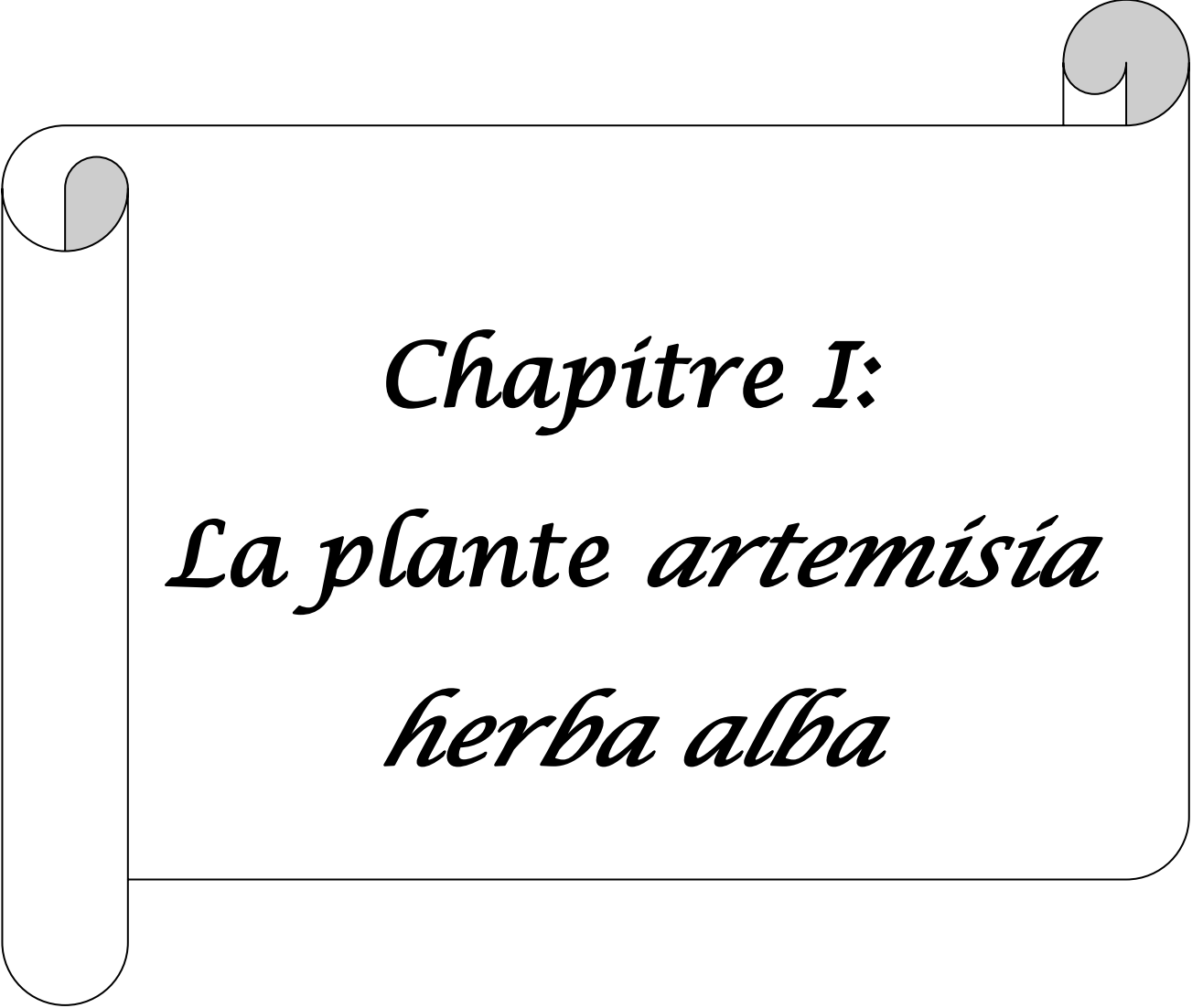
---

urinaires et sur les antibiotiques et enfin donner un petit rappel sur la résistance bactérienne.

- La deuxième partie concerne l'isolement, l'identification et la détermination de l'antibiogramme des différentes souches bactériennes issues de différents prélèvements d'origine clinique, et enfin évaluer le spectre antibactérien des huiles essentielles diluées d'*Artemisia herba alba* vis-à-vis des bactéries isolées cliniquement par la méthode CMI (Concentration Minimale Inhibitrice).



*Première partie :*  
*Etude bibliographique*



*Chapitre I:*  
*La plante artemisia*  
*herba alba*



## **I - *Artemisia herba alba* :**

### **I -1-Généralités :**

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées: c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (**Mucciarelli and Maffei., 2002**).

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes (**Kundan et Anupam., 2010**).

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Mirjalili et al ., 2007**).

### **I -2- Description botanique**

L'*Artemisia herba alba* Asso (Nom vernaculaire : Armoise blanche en français, Chih en arabe) est une plante vivace de 30-50 cm de long, qui se caractérise par une odeur de thymol, très verdoyante et avec de jeunes branches tomenteuses. Les feuilles sont coudées, généralement pubescentes, argentées. Les fleurs sont hermaphrodites, emballés dans des petites capitules (comprenant chacun de 3 à 8 fleurs). Les fruits sont des akènes.

La croissance végétative de l'*Artemisia herba alba* Asso à lieu à l'automne, la floraison commence en Juin et se développe essentiellement en fin d'été. L'armoise blanche se développe dans les zones bioclimatiques qui vont de la partie supérieure semi-arides à la partie inférieure Subsaharienne (**Gharabi et al., 2008**).



**Figure 01.** Plante *Artemisia herba alba*

### **I -3- Systématique de la plante :**

Classification APG III (2009) selon NCBI :

- Règne : plantae
- Clade : Angiospermes
- Clade : Dicotylédones vraies
- Clade : noyau des Dicotylédones vraies
- Clade : Astéridées
- Clade : Campanulidées
- Ordre : Asterales
- Famille : **Asteracées**
- **Sous-familles :Asteroideae**
- **Tribu :Anthemideae**
- **Sous-tribu :Artemisiinae**
- Genre : **Artemisia**
- Nom binomial: **Artemisia herba-alba (Asso,1779)**

**Identité vernaculaire**

Tamazight : Izerg

Arabe : Chih

Français : Armoise blanche.(wikipédia)

**I -4- Origine et distribution :**

En commun avec plusieurs d'autres espèces de ce genre, l'*Artemisia herba alba* Asso, plante caractéristique du moyen-orient et d'Afrique du Nord (**Feinbrun-Dothan, 1978**), est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies L'armoise blanche se développe dans les zones bioclimatiques qui vont de la partie supérieure semi-arides à la partie inférieure Subsaharienne [**Gharabi Z Sand RL (2008).**].

**I -5- Composition chimique :**

Historiquement, l'armoise blanche a été un genre productif dans la recherche de nouveaux composés biologiquement actifs. Les investigations phytochimiques ont montré que ce genre est riche en sesquiterpènes, monoterpènes, flavonoïdes et coumarines [**Sanz;J.Fand J. A. Marco (1991)**].

Les flavonoïdes détectés dans l'*Artemisia herba alba* montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols) jusqu'à les flavonoïdes méthylés qui sont très inhabituel [**Saleh N A M, et al. (1985)**]; [**Saleh NAM, et al. (1987)**].

Parmi les composants les plus importants des huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba* Asso on trouve les santonines, des triterpènes pentacycliques et les tanins [**Gharabi Z Sand RL (2008).**].

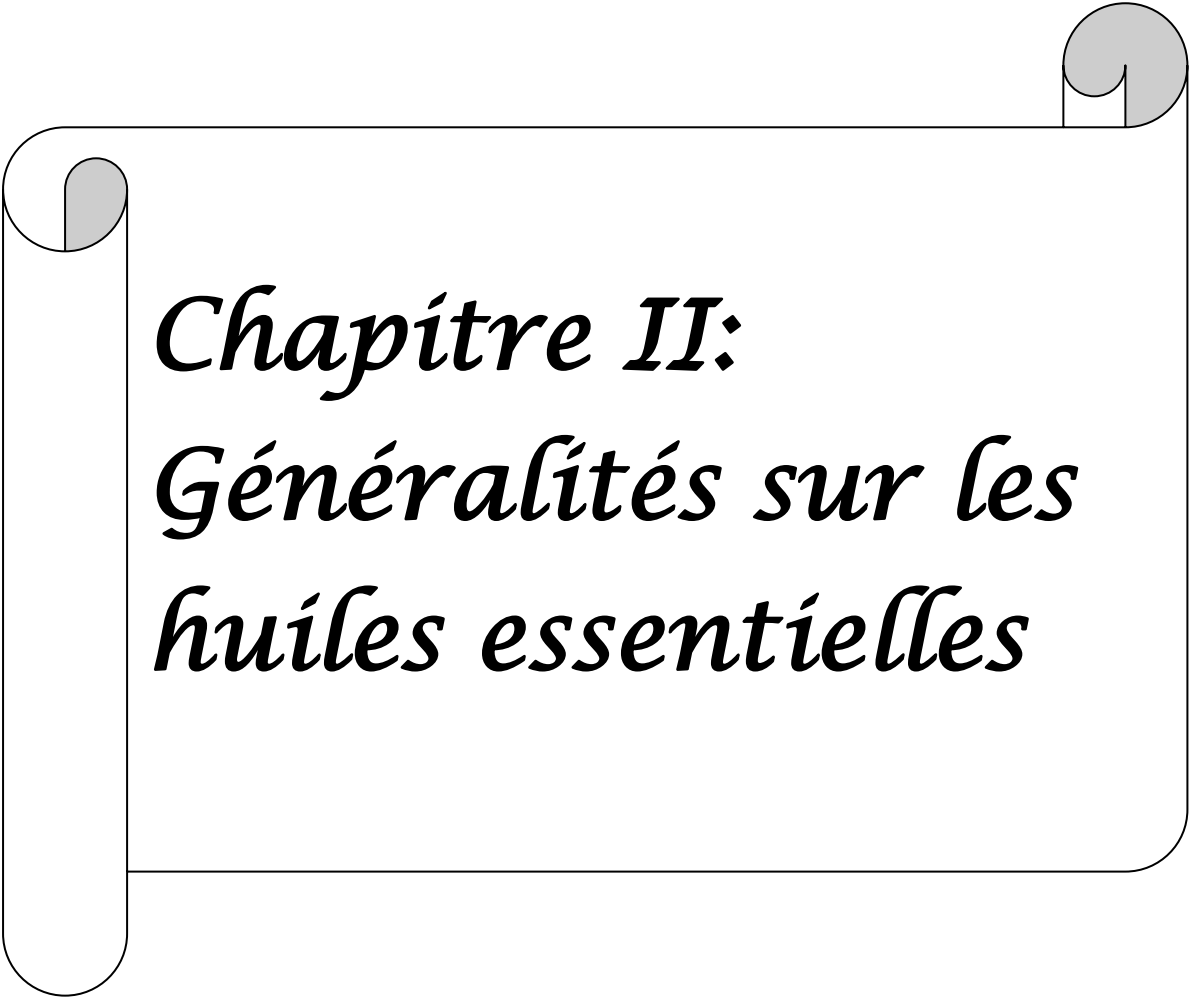
**I -6- L'utilisation traditionnelle d'*artemisia herba alba* :**

L'espèce *A. alba* appelée localement « chih » ou armoise blanche est largement utilisée en médecine traditionnelle. Elle a été utilisée, tout d'abord, comme aromatisant dans le thé et le café, puis elle est devenue une panacée dans la médecine traditionnelle arabo-musulmane.

Traditionnellement utilisée pour traiter les désordres gastriques ainsi que pour son activité antihelminthique, elle présente aussi un caractère vermifuge très prisé pour le bétail.

Des études ethno pharmacologiques ont montré l'intérêt de l'armoise blanche contre le diabète grâce à son activité hypoglycémiant, ainsi que contre l'hypertension, et également la présence d'activité emménagogue.

Les extraits aqueux d'armoise blanche montrent des activités anti-leishmaniose, antigénotoxiques, antidiabétiques, antibactériennes et antispasmodiques. L'huile essentielle présente quelques activités : antimicrobiennes, antifongiques, spasmolytiques et hypoglycémiques [(Marrif, H. I. et al. 1995), (Bellakhdar, H.,1997)].



*Chapitre II:  
Généralités sur les  
huiles essentielles*

**II.1. Définition :**

Les huiles essentielles sont définies comme étant des produits de composition chimique assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Ces huiles sont à la fois des parfums et des remèdes naturels. Elles doivent être utilisées à très faibles doses, car leurs principes actifs sont hyper concentrés (**Bruneton., 1999**).

**AFNOR** a établi la définition suivante pour les H.E.: ce sont des produits obtenus soit à partir des matières premières naturelles par distillation à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de citrus par procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques (**AFNOR, 2000**), sachant que cette définition exclue quelques procédés d'extraction comme l'enfleurage et le gaz comprimé (**Bruneton., 1999**).

**II.2. Propriétés des huiles essentielles :****II.2.1. Propriétés physiques :**

Les huiles essentielles, sont des substances volatiles, liquides à température ambiante, de nature hydrophobe, rarement colorées, et fortement odorantes. Elles ont un indice de réfraction élevé (**Bruneton, J., 1999**), peu miscibles à l'eau, et solubles dans les solvants organiques (**Tableau 01**).

**Tableau 01.** Principales caractéristiques physiques de quelques terpènes.

Terpène	Poids moléculaire	Odeur	Solubilité dans l'eau	Solubilité dans les solvants
<b>limonène</b>	136.23	Citronnée agréable	Très peu soluble	Miscible à l'alcool
<b>menthol</b>	156.26	Agréable fraîche	Légèrement soluble	Miscible à : Alcool, chloroforme, éther
<b>thujone</b>	152.23	Forte aigue	Quasi insoluble	Miscible aux solvants organiques

**II.2.2. Composition chimique :**

Les huiles essentielles sont des mélanges de composition chimique très variable et complexe, en effet, elles peuvent renfermer jusqu'à plusieurs centaines de molécules différentes, chacune ayant des propriétés particulières. Ces molécules appartiennent généralement à deux grandes familles chimiques.

- ✓ **Les terpènes** : sont construits à partir de plusieurs entités isopréniques, constituant une famille très diversifiée tant au niveau structural que fonctionnel. On rencontre dans les huiles essentielles principalement des mono et des sesquiterpènes (possèdent respectivement 10 et 15 atomes de carbone) plus rarement des di-terpènes (20 atomes de carbone) ainsi que leurs dérivés oxygénés.
- ✓ **Les composés aromatiques dérivés du Phényl-propane** tel que l'eugénol (huile essentielle de girofle), l'anéthol et l'aldéhyde anisique (huile essentielle de Badiane et d'anis), le carvacrol (huile essentielle d'origan), l'acide et l'aldéhyde cinnamiques. Ceux-ci constituent les principaux membres de cette famille.

Les huiles essentielles peuvent contenir des composés aliphatiques plus ou moins fonctionnalisés.

➤ **Chémotype :**

C'est une classification chimique, biologique et botanique qui désigne la molécule majoritairement présente dans une huile essentielle (**Bruneton, J., 1999**).

Cette classification des huiles essentielles selon le produit majoritaire ou chémotype dépend d'un certain nombre de facteurs, entre autres :

- ❖ Le mode de culture de la plante
- ❖ Le stade de développement botanique : pendant ou après la floraison [(**Brada, M. et al. 2007**) – (**Falmini. G. et al. ; 2007**)]
- ❖ L'organe distillé.
- ❖ Le mode d'extraction utilisé tel que la distillation ou l'hydro-distillation.
- ❖ L'origine géographique de la plante.

### **II.3. Indication thérapeutique :**

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HE pour traiter un certain nombre de maladies.

Le terme aromathérapie vient du chimiste Français René-Maurice Gattefosse, qui a utilisé l'HE de lavande pendant la première guerre mondiale pour soigner des blessures et des infections. Selon lui, la lavande était plus appropriée pour traiter les infections que plusieurs antiseptiques utilisés à cette époque. Cette spécialité préoccupe de plus en plus des médecins

et des pharmaciens qui ont publié un nombre important d'ouvrages d'aromathérapie (**Roulier, 1992**).

Les HE sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries [(**Kato et al. 1990**), (**Schwartz R. et al., 1992**), (**Sourai; 1989**)]. La listerine qui est une solution constituée d'HE de thymol et d'eucalyptol possède une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire (**Kato T. et al. 1990**).

Les huiles essentielles de thym et de romarin ont été utilisées pour soulager la fatigue, les maux de tête, les douleurs musculaires et quelques problèmes respiratoires.

Malheureusement, ces prescriptions ne possèdent pas de bases scientifiques rigoureuses car elles sont souvent tirées de pratiques et de tâtonnements empiriques (**Valnet, 1974**).

#### **II.4. Mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles :**

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire :

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K<sup>+</sup>): ce mécanisme a été observé avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries Gram<sup>+</sup> (*Staphylococcus aureus*) et Gram<sup>-</sup> (*E. coli*) et levure (*Candida albicans*) in vitro.

Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP. Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée.

Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides.



**Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes:** en général, les bactéries Gram - sont plus résistantes que les Gram + grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram - est plus riche en lipopolysaccharides et en protéines que ceux de Gram+ qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries **(MALECKY ; 2008)**.

### **II.5. Techniques d'évaluation de l'activité antimicrobienne :**

Ils existent plusieurs techniques d'évaluation de l'activité antibactérienne des composés purs ou des extraits bruts.

#### **II.5.1.L'aromatogramme**

L'aromatogramme est basé sur une technique très utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode des disques. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de pétri, le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée de l'huile essentielle **(Pibiri, M.-C. ; 2006)**.

Il existe plusieurs méthodes pour mesurer l'activité antimicrobiennes des agents antimicrobiens (dans notre cas les huiles essentielles). Parmi ces méthodes on peut citer :

#### **II.5.2. Technique de diffusion en milieu solide**

Cette technique est comparable à l'antibiogramme. Le principe de cette méthode repose sur la diffusion du produit à tester (avec une concentration connue) en milieu solide, dans une boîte pétri) préalablementensemencée.

L'agent antimicrobien diffuse dans le milieu, créant une zone claire d'inhibition de croissance du germe, autour du disque chargé d'agent antimicrobien. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure de la zone d'inhibition. Il est indispensable d'établir un antibiogramme pour comparer l'effet du produit testé aux antibiotiques **( Haddouchi, F.; Benmansour, A., 2008)**.

En fonction du diamètre d'inhibition on peut classer les souches étudiées en souches sensibles, intermédiaires ou résistantes. Pour obtenir des résultats fiables, il faut travailler dans des conditions standardisées car plusieurs facteurs peuvent influencer sur les résultats :

- La densité de l'inoculum
- La température d'incubation
- Le temps d'incubation

- La concentration du produit à tester
- La composition du milieu de culture, ainsi l'épaisseur de la gélose.

Certains auteurs mentionnent que les résultats des tests des huiles essentielles ne sont pas toujours comparables d'un groupe à l'autre, car certains diffusent mal dans la gélose (**Amana, E. K., 2007**)

### **II.5.3. Technique de dilution en milieu solide :**

Cette méthode consiste à diluer le produit à tester, on réalise une gamme de concentration, puis on incorpore ces dilutions dans le milieu (la gélose en cours de refroidissement), après la solidification du milieu, l'ensemencement et l'incubation sont réalisés.

L'avantage principal de cette méthode est de définir à la fois l'activité antimicrobienne du produit et sa concentration minimale inhibitrice (CMI) [(**Chabasse, D. et al.; 1999**), (**Atta-Ur, R. et al.; 2001**), (**Amana, E. K., 2007**)-].

La lecture des résultats se fait visuellement par observation de croissance ou d'inhibition décroissance du microorganisme, il est toutefois indispensable d'établir un test témoin ou contrôle négatif, sans produit antimicrobien.

### **II.5.4. Technique de dilution en milieu liquide :**

Cette technique consiste à réaliser des dilutions dans le milieu de culture (liquide), à partir d'une solution mère du produit à tester, chaque dilution est ajoutée à une suspension de microorganismes, l'ensemble est incubé pendant un temps donné, la température et le temps d'incubation dépendent du microorganisme testé. La lecture des résultats se fait soit visuellement ou par mesure de la turbidité par un spectrophotomètre.

#### **a- Concentrations critiques :**

##### **a-1- Concentration minimale inhibitrice CMI :**

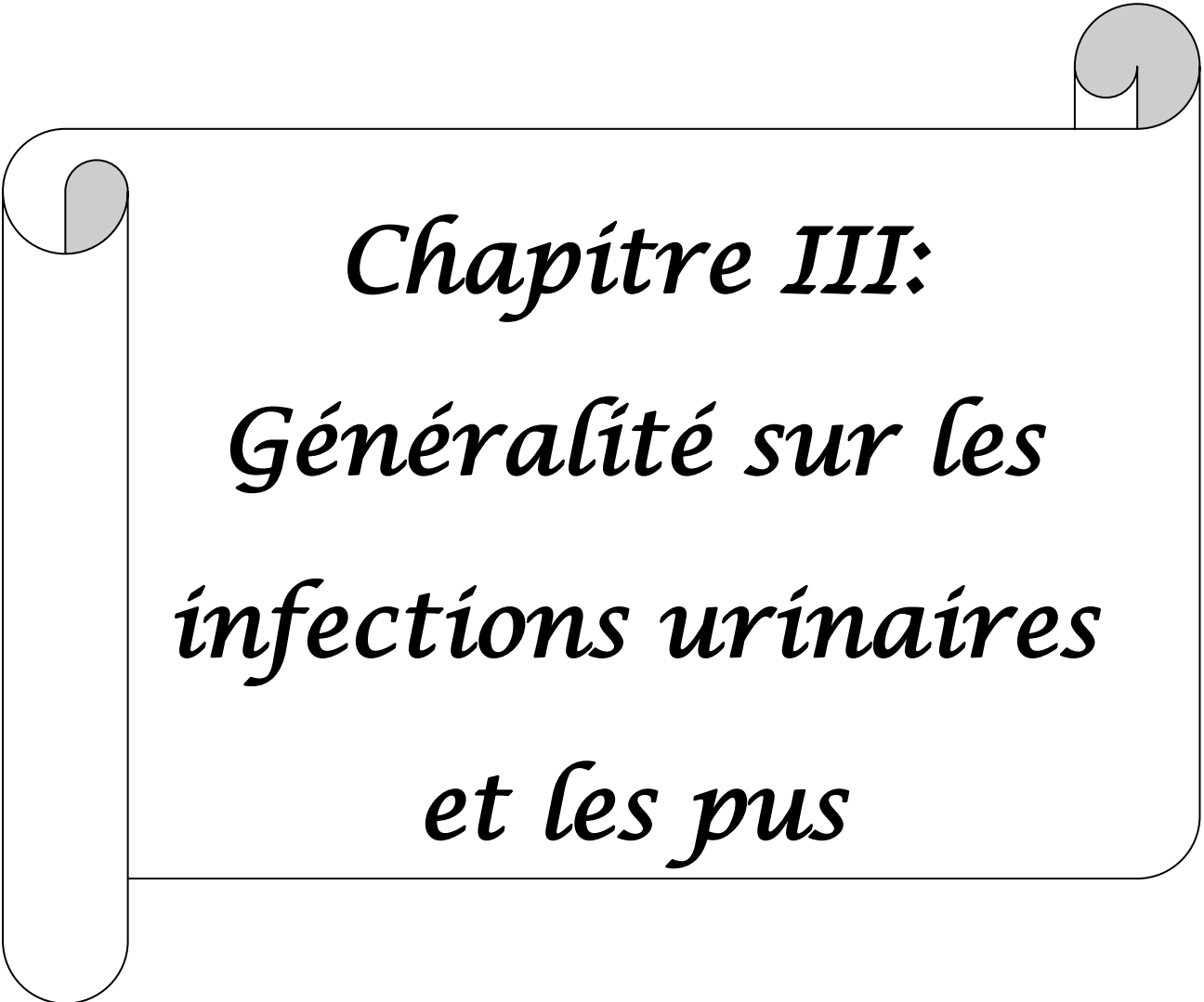
La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en mg/l d'un antibiotique capable d'inhiber la croissance du microorganisme, après 18 heures de contact. Dans le cas des bactéries, la CMI est une donnée quantitative d'un antibiotique pour une souche bactérienne. C'est une information précise, nécessaire devant une bactérie multi résistante à la recherche du niveau d'activité d'un antibiotique et permettant un choix thérapeutique adapté (**Eyouen, A. et al. ; 1998**).

Concernant les huiles essentielles, les techniques de détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI sont décrites par plusieurs études [(**Franchomme, P.,1981**), (**Duraffourd, C.; Lapraz, J.-C., 2002**)].

La CMI d'une huile essentielle est toujours inférieure à celle de son constituant principal, c.-à-d. son activité globale est toujours supérieure à celle de son produit majoritaire (**Duraffourd, C.; Lapraz, J.-C., 2002**).

#### **a-2- Concentration minimale bactéricide CMB :**

La CMB est définie comme étant la concentration de l'antibiotique qui laisse moins de 0,01% de survivants de microorganismes après 18 heures. Les antibiotiques classés comme bactéricides sont ceux pour lesquels il y a peu d'écart entre la CMI et la CMB (**Nauciel, C., 2000**).

A decorative graphic of a scroll with a black outline and rounded corners. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curving upwards. The text is centered within the scroll.

*Chapitre III:  
Généralité sur les  
infections urinaires  
et les pus*

**III.1. Généralité sur les infections urinaires :****III.1.1. Définition :**

Les infections urinaires est un terme général qui comprend à la fois à la colonisation microbienne asymptomatique de l'urine et l'infection symptomatique avec l'invasion microbienne et inflammation des structure de l'arbre urinaire (**SEDDIKI, 2007**).

Les infections du système urinaire peuvent être divisées selon leur localisation, on doit distinguer les infections de l'appareil inférieur (infection basse) et les infections de l'appareil urinaire supérieur (infection haute).

Les infections de l'appareil urinaire sont plus courantes chez les femmes que chez les hommes au total, 35%, des femmes ont eu au moins un épisode d'infection urinaire dans leur existence (**SOUID et LEHRAOUA, 2009**).

L'ECBU a pour but d'exclure ou d'affirmer l'existence d'une infection du tractus urinaire. Dans l'affirmative, l'isolement du germe en cause et l'antibiogramme doivent permettre de traiter efficacement l'infection et d'éviter des complications menaçant la fonction rénale (**M. Arock et al ,2007**)

**III.1.2. Principales infections des voies urinaires :**

Les infections urinaires ont été classées en fonction d'organe infecté en deux types : infections urinaires basses et infections urinaires hautes (**Richet et Idatte ,1998**)

**a-Infection urinaire basse :**

**1-Cystite** : se plaignent de dysurie (miction douloureuse), d'impériosité (besoin d'urines sans délai) et d'une augmentation de la fréquence des mictions. 10 à 20% des cystites de la femme sont causés par chlamydiae, non dépistée par les techniques bactériologiques classiques. la plupart des patients atteints de cystite ou une pyurie défisse par une augmentation des leucocytes dans les urines (**Sacchacter., et al .1999**)

**2-Urétrite** : l'urétrite est l'infections de l'urètre antérieur, il se caractérise par une dysurie et pollakiurie avec ou sans écoulement purulent. (**Richet et Idatte ; 1998**)

La plupart des urétrites purulentes sans cystite sont transmises par voie sexuelle, elles peuvent être soit gonococcique, soit non gonococcique. (**Sacchacter et al ,1999**)

**b-Infection urinaire haute :**

**1-Prostatite :** C'est l'inflammation de la prostate aigue ou chronique. La forme aigue est une infection bactérienne tandis que la forme chronique est une séquelle de la forme aigue.

La prostatite se traduit par divers trouble de la miction ; essentiellement la dysurie, la pollakiurie mais aussi par des brulures mictionnelles, une hématurie est également possible (**Barjon et al, 1991**).

**2-Pyélonéphrite :** A l'inverse des cystites, les pyélonéphrites sont des infections invasives, responsable de fièvre, douleur du flâne, et douleur à la palpation ; une hyperleucocytose est en général associée l'urine de patient contient des cylindres de leucocytes, structure allongées composées de cellules empilées dans les tubules et sécrétées dans une matrice protéique, leur présence indique une atteinte tubulaire. (**Sacchacter et al, 1999**).

**III.1.3. Les sujets à risques élevés de l'infection urinaire :**

La variance de l'IU est en fonction du sexe, de l'âge, et d'autres particularités (pathologie et sonde).

**III.1.3.1-Chez l'enfant :**

La fréquence des IU oscille autour de 1% chez le nouveau-né, avec une prédominance masculine. Ces infections compliquent généralement des malformations urinaires qu'il importe de détecter.

A l'âge préscolaire et secondaire, la fréquence des infections urinaires atteint de 1 à 2% avec, cette fois, une forte prédominance féminine ; des malformations moins importantes peuvent être découvertes a ce stade, le reflux vésico-urétéral en particulier (**Barjon et al, 1991**)

**III.1.3.2- Chez la femme :**

A l'âge adulte la prédominance féminine s'accroît encore et la fréquence augmente avec l'âge : 1% avant 20 ans, 6% à 60 ans, 10% à 70 ans.

L'IU est aussi très fréquente pendant la grossesse : 5 à 6% des femmes enceintes ont une IU qui, une fois sur deux reste asymptomatique. (**Barjon et al, 1991**).

**III.1.3.3-Chez l'homme âgé :**

A partir de 50 ans, l'IU devient moins exceptionnelle chez l'homme, lorsqu'apparaissent les premiers troubles prostatiques. Cette fréquence augmente avec l'âge pour atteindre 4% chez l'homme de plus de 60 ans. (Fauchere, L. ; et Avril, J.,(2002).)

**III.1.3.4-Chez les personnes alitées :**

Surtout chez les vieilles personnes, le maintien au lit favorisent l'IU. Le risque s'accroît encore avec l'hospitalisation et, dans certaines statistiques, il dépasse alors 10% pour les hommes et 30% chez les femmes. (Pechère et al, 1991)

**III.1.3.5-Chez le diabétique :**

Les IU sont fréquentes chez les patients diabétiques particulièrement chez les femmes, avec un risque relatif par rapport aux non diabétiques compris entre 2 et 4,3. Une fois l'IU installée il est difficile de l'éradiquer car l'infections est facilitée par la concentration anormale de glucose dans les urines. Il s'agit donc d'un problème sérieux, qui implique un diagnostic et une prise en charge précoce et attentif. (Meyrie, 2003).

**III.1.3-6-Chez le transplanté rénal :**

Le transplanté est particulièrement exposé aux infections à germes opportunistes et développement intracellulaire.

Les IU sont la première cause d'infection chez le transplanté rénal. La plupart sont bénignes, quoique souvent récidivantes, mais elles peuvent parfois induire des complications graves pouvant entraîner la perte du greffon. (Meyrie, 2003).

**III.2.Généralités sur la genèse d'un pus :**

La formation d'un pus est un des signes les plus caractéristiques d'une infection. Le pus est constitué de cellules à activité phagocytaire (en général des polynucléaires neutrophiles altérés) et de bactéries (pas toujours très nombreuses à l'examen direct) (D. Tiouit, 2013).

Les cellules en activité phagocytaire sont attirées au foyer infectieux par diverses substances constitutives de la paroi des bactéries : la muréine joue le rôle le plus actif, mais d'autres polysaccharides possèdent, à un degré moindre, cette propriété.

Les germes dont la paroi est la plus riche en muréine (Staphylocoques, Streptocoques) attirent massivement les polynucléaires, le pus est alors abondant : ces germes sont dits pyogènes.

Les phagocytes subissent ensuite, au foyer infectieux, certaines dégradations dues à l'action de substances sécrétées par les bactéries (leucocidines).

Une infection suppurée localisée peut se développer dans n'importe quel région ou organe du corps (**D. Tiouit, 2013**).

Il se forme du pus au cours d'infections urinaires, respiratoires, méningées, génitales et même intestinales. Il est alors retrouvé dans les urines, les expectorations, le liquide céphalorachidien, les prélèvements génitaux, les selles.

### **III.2.1. Facteurs favorables à l'infection suppurée :**

Ils sont multiples :

- Traumatismes ;
- Obstruction d'une voie d'excrétion normale (ex : glandes sudoripares, voies biliaires, arbre bronchique, voies urinaires) ;
- Ischémie (Infarctus, gangrène) ;
- Substances chimiques irritantes (ex : contenu gastrique, bile injecté par voie I.M...);
- Formation d'un hématome ;
- Accumulation d'un liquide de sécrétions (obstruction lymphatique, œdème cardiaque ...);
- Corps étrangers (ex : balles, éclats, fils de suture ...);
- Troubles vasculaires ... (**D. Tiouit, 2013**).

### **III.2.2. But de l'examen cytbactériologique des pus :**

- ✓ Faire le diagnostic de certitude d'une infection suppurative.
- ✓ Identifier le ou les agents microbiens responsables.
- ✓ Déterminer la sensibilité aux antibiotiques du germe incriminé. (**D. Tiouit, 2013**).



III.2.3. Démarche de l'ECB de pus :

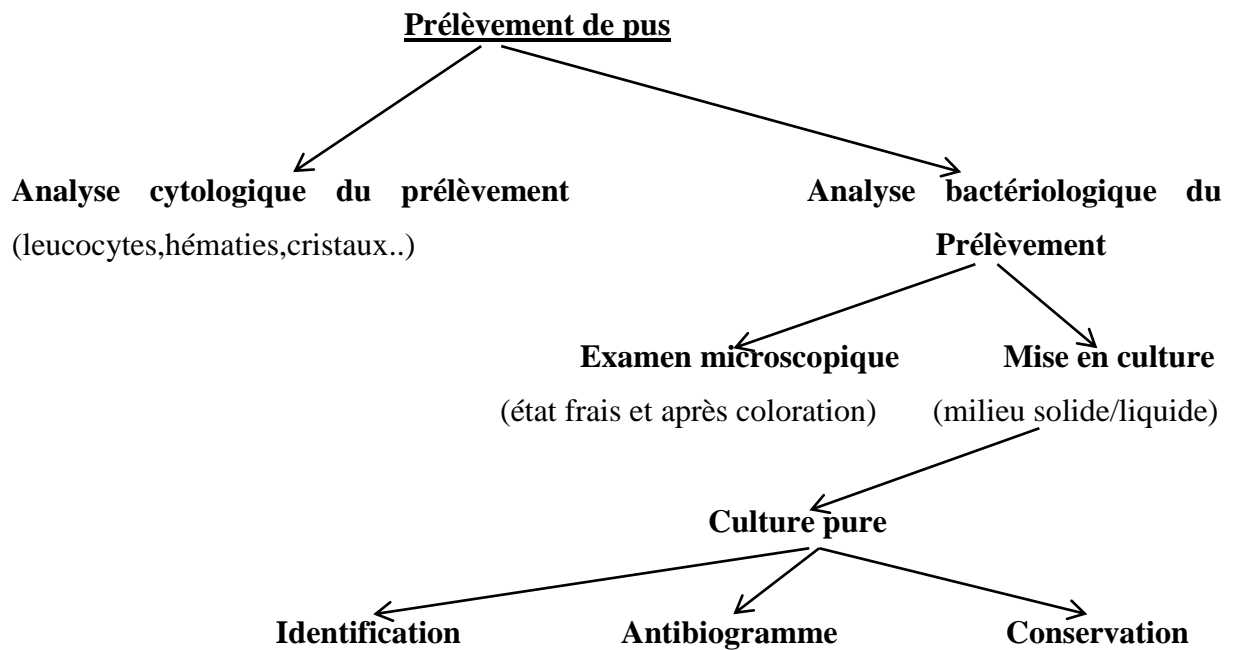
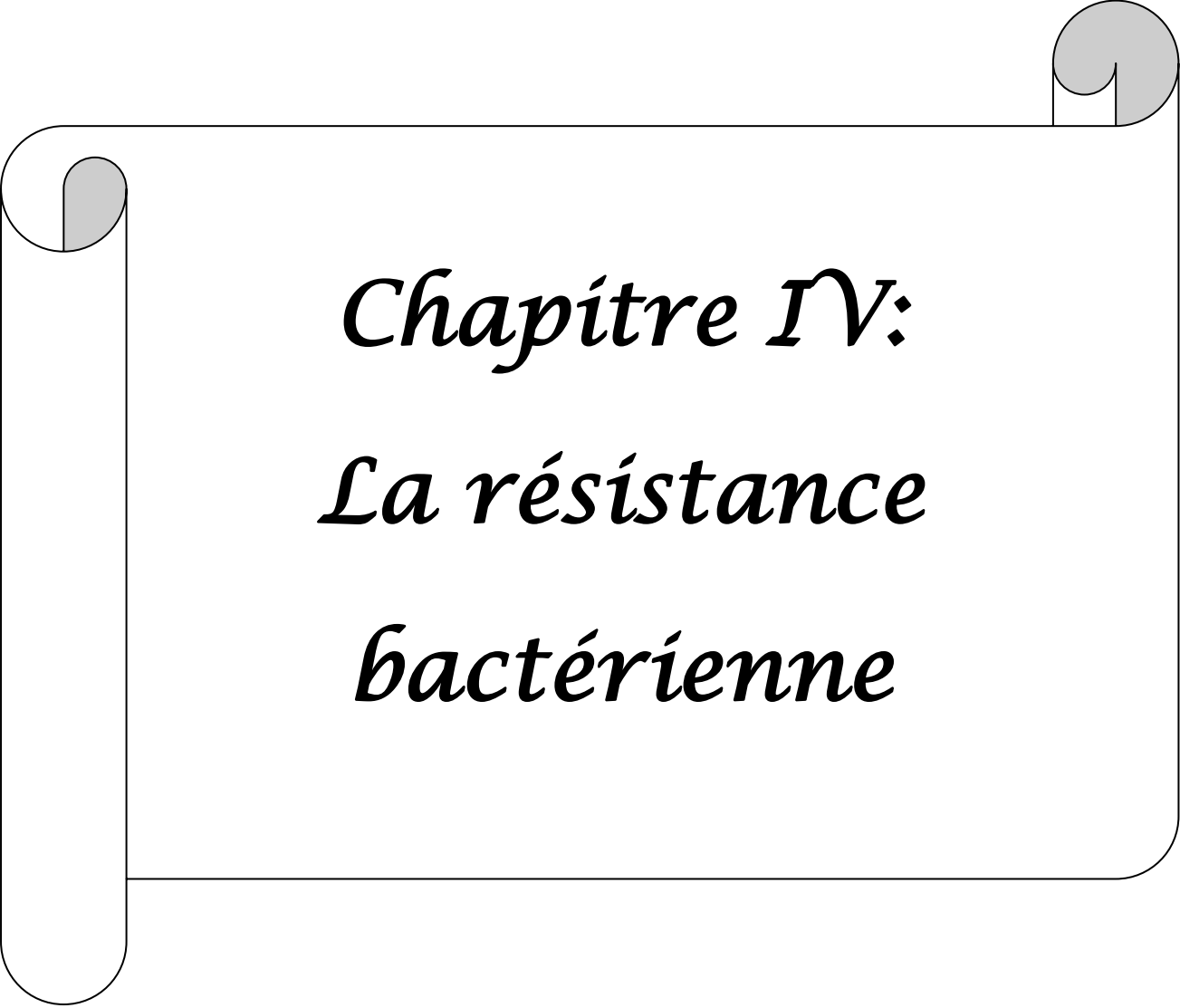


Figure 02. Démarche de l'examen cyto-bactériologique de pus ( Tiouit, 2013).



*Chapitre IV:  
La résistance  
bactérienne*

**IV.1.Définition :**

Les bactéries sont des micro-organismes remarquablement adaptables, à l'origine de maladies graves ou simples.

Elles sont capables de survivre et se multiplier dans l'environnement et certaines forment des spores qui survivent pendant des décennies.

D'autres ne peuvent survivre qu'au contact intime de leur hôte humain. Alors que la plupart des bactéries se répliquent en quelques heures ou jours, d'autres ont une croissance beaucoup plus lente, entraînant des infections chroniques difficiles à traiter. En plus d'une grande diversité d'habitat, les bactéries ont un important potentiel d'adaptation génétique.

Elles contiennent souvent de l'ADN plasmidique, capable de transférer du matériel génétique au sein de l'espèce ou vers des espèces différentes. Cette adaptabilité génétique peut accroître à la fois leur pouvoir pathogène et leur résistance aux antibiotiques (**TONY et PAUL, 1999**).

**IV.2.Description de quelques bactéries étudiées :****a. Escherichia coli**

*Escherichia coli* est un bacille à gram négatif (**Patrick et al., 1988**), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6  $\mu\text{m}$ , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5  $\mu\text{m}$  (**Steven et al., 2004**).

Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales.

D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies (**Patrick et al., 1988**).

**b- Staphylococcus aureus**

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1  $\mu\text{m}$ . Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré (**Patrick et al., 1988**).

*S. aureus* représente la cause de méningite, ostéomyélite et la diarrhée (Steven et al., 2004).

**c- Pseudomonas aeruginosa :**

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 µm de long et 0.5 à 0.8 µm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de « vol moucheron ».

*P. aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéropastes. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3 ème rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1 er rang pour les infections pulmonaires basses et le 3 ème rang pour les infections urinaires (Richard et Kiredjian., 1995).

**d. Enterobacter:**

Les *Enterobacter* sont des bacilles à Gram négatif généralement mobiles, fermentent ou non le lactose et ils ont une β-galactosidase (FAUCHERE 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 (FRASER et al., 2010).

**e. 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 penner*. (GOUBAU et PELLEGRIMS, 2000). Certaines espèces comme *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris* ont une propriété très connue de s'étaler très rapidement sur boîte de gélose: c'est le phénomène de swarming (PELMONT, 2005).

**f. *Klebsiella pneumoniae* :**

*Klebsiella pneumoniae* est un bacille à Gram-négatif, fréquemment rencontré en pathologie humaine. Il cause des infections nosocomiales, il peut aussi être à l'origine des infections communautaires, surtout chez les patients présentant des facteurs de comorbidité telle la bronchite chronique, la cirrhose hépatique, et le diabète sucré [Méric et al. ;2007].

**IV.3. la résistance bactérienne :****IV.3.1. Définitions :**

Selon l'organisation mondiale de santé (OMS), la résistance d'une bactérie à un antibiotique est définie comme suit : « une souche est dite résistante, lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce.

En effet, la résistance d'une souche à un antibiotique s'évalue par la concentration minimale inhibitrice (CMI) de cet antibiotique vis-à-vis de cette souche (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

**IV.3.2. Types de résistance :****IV.3.2.1. Résistance naturelle (ou intrinsèque) :**

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribuer à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à sa faible affinité pour l'antibiotique ou encore à son absence. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à Gram négatif à la vancomycine est naturelle.

La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine Chromosomique. Elle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission Horizontale) (SYLVIE, 2009).

**IV.3.2.2. Résistance acquise :**

Certaines souches, au sein d'une espèce naturellement sensible à l'antibiotique, deviennent résistantes.

Ce phénomène résulte d'une modification du patrimoine génétique par l'acquisition de gène, en donnant un phénotype bien précis de résistance différent du phénotype sauvage (JEHL *et al.*, 2003).

Contrairement à la résistance naturelle, la résistance acquise est imprévisible et évolutive, observée *in vivo* et *in vitro* pour la plupart des bactéries et des antibiotiques connus (CANU et PETER, 2001).

L'acquisition des gènes de la résistance ne suffit pas à l'apparition de populations bactériennes résistantes, il faut que les bactéries qui les hébergent aient une croissance favorisée par rapport aux bactéries sauvages. C'est seulement si l'environnement contient des antibiotiques que les bactéries résistantes vont être sélectionnées et émerger. C'est ce qu'on appelle la pression de sélection par les antibiotiques (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

**IV.3.3. Phénotypes de la résistance:**

La résistance bactérienne à un antibiotique peut faire partie de patrimoine génétique de la bactérie, ou d'une modification génétique, liée soit à la mutation de gènes normaux ou et à l'acquisition de matériel génétique étranger qui se transmet par des éléments mobiles transférables : plasmides et transposons, présent chez d'autres espèces (BECIS et ZITANI, 2005).

**IV.3.3.1. Résistance par mutation chromosomique :**

La mutation apparaît sur un gène, porté naturellement par un chromosome impliqué dans le mode d'action de l'antibiotique, une mutation n'affecte qu'un seul caractère, elle soit spontanée, spécifique, stable et indépendante.

Ce phénomène rare ne concerne que 10% des cas de résistance des souches pathogène isolées en clinique (CANU et PETER, 2001).

**IV.3.3.2. Résistance par l'acquisition des gènes :**

Une bactérie acquiert un ou plusieurs gènes étrangers par transfert génétique horizontale, en dehors de tout mécanisme de division cellulaire. Trois mécanismes permettant une diffusion rapide et étendue des informations génétiques chez les bactéries :

- ✓ Transformation ;
- ✓ Transduction ;
- ✓ Conjugaison.

Les gènes transférables sont la plupart du temps portés par des plasmides ou des transposons (CANU et PETER, 2001).

La résistance par acquisition ou extra-chromosomique, est un phénomène fréquent (80 à 90% de résistance acquise) (BECIS et ZITANI, 2005).

#### **IV.3.4. MECANISMES DE RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES :**

Les bactéries exploitent des stratégies distinctes afin de se défendre contre l'action des antibiotiques (tableau 02) :

##### **IV.3.4.1. Perméabilité limitée à l'antibiotique :**

Elle est la cause de la résistance des bacilles Gram négatif à la pénicilline G et du bas niveau résistance des *Streptococcus* aux aminosides (résistance naturelle). Pour les bacilles Gram positif, ce sont des porines de la membrane externe qui contrôlent le passage. Chez *Pseudomonas*, la grande résistance est liée aux difficultés de pénétration des antibiotiques par les porines existantes. Pour d'autres bactéries, certains mutants perdent les protéines facilitant l'entrée de l'antibiotique et deviennent alors résistants (résistance acquise) (JOFFIN et GUY, 2001).

##### **IV.3.4.2. Absence ou diminution de l'affinité de récepteur à l'antibiotique (ou modification de la cible) :**

Elle est la cause de la résistance à la streptomycine de bactéries mutantes dans une des protéines du ribosome fixant l'antibiotique qui perd son affinité pour celle-ci. Il en est de même pour des enzymes mutées comme l'ARN polymérase, ne fixant plus ou beaucoup moins bien l'antibiotique. C'est aussi le cas de la résistance des *Staphylococcus* à la méticilline ou à l'oxacilline par modification de la protéine liant les pénicillines (PLP), enzyme de la voie de synthèse du peptidoglycane (JOFFIN et GUY, 2001 ; PRESCOTT et al., 2003).

##### **IV.3.4.3. Production d'enzymes inactivant les antibiotiques :**

Ce mode de résistance implique l'inactivation de l'antibiotique par un enzyme bactérien.

Les  **$\beta$ -lactamases** catalysent l'hydrolyse du cycle  $\beta$ -lactame. On en distingue plusieurs classes:

- ✓ Classe A: enzymes caractérisés par la présence d'une sérine dans leur site actif, qui dégradent préférentiellement les pénicillines. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique.
- ✓ Classe B: métallo-enzymes qui ne sont actifs qu'en présence de  $Zn^{2+}$ . Ils sont donc inhibés par des agents chélateurs. Ces enzymes ont généralement un large spectre d'activité.
- ✓ Classe C: enzymes présentant surtout une activité sur les céphalosporines. Elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique.
- ✓ Classe D: ces enzymes agissent principalement sur les pénicillines ; elles sont variablement inhibées par l'acide clavulanique.

Les  **$\beta$ -lactamases** sont le plus souvent codées par des plasmides. Les plus grands producteurs de  $\beta$ -lactamases sont les staphylocoques, mais surtout les Gram (-). Les anaérobies produisent surtout des céphalosporinases.

Les **enzymes modifiant les aminoglycosides** se répartissent en 3 classes: les N-acétyltransférases, les O-nucléotidases, les O-phosphorylases.

La **chloramphénicol-acétylase** confère la résistance de Gram (+) et (-) au chloramphénicol. L'érythromycine estérase inactive le cycle lactone de l'érythromycine. Ce mode de résistance plasmidique est toutefois assez rare et n'a été décrit que pour des *E. coli*.

Un **fluor quinolone acétylase** active sur les molécules présentant un substituant pipérazine a été récemment décrit (PAUL, et al.; 2008).

#### IV.3.4.4. Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux :

Ce mécanisme nécessite une source d'énergie active, les protéines transmembranaires impliquées dans le transport des molécules nutritives fonctionnant comme une véritable pompe. Celle-ci favorise l'excrétion accélérée de l'antibiotique (CANU et PETRE, 2001).



On retrouve ces systèmes chez *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis*, et *Staphylococcus aureus* (PRESCOT et al., 2003).

Ce mécanisme peut concerner des antibiotiques très variés, tel que : Fluoroquinolones, le chloramphénicol, les tétracyclines, les  $\beta$ -lactamines, ce qui peut constituer un système de multi résistance (JEHL et al., 2003).

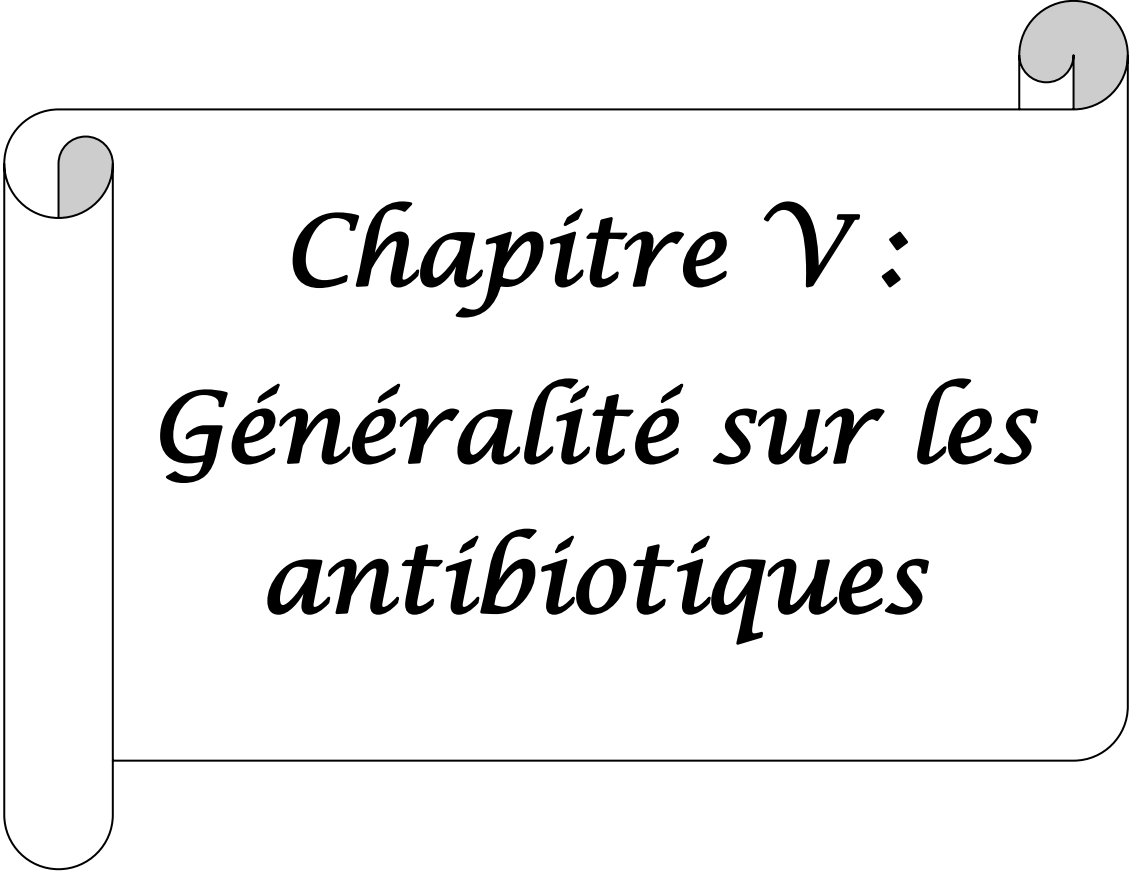
**Tableau 02** : Principaux mécanismes connus de résistance aux antibiotiques (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

<b>Antibiotiques</b>	<b>Mécanisme de résistance</b>	<b>groupes bactéries concernés</b>
<b><math>\beta</math>-lactamines</b>	<b><math>\beta</math>-lactamases</b>	<b>Staphylococcus, entérobactéries</b>
	<b>Modification des PLP cibles</b>	<b>Pneumocoques, Haemophilus, Neisseria, Staphylocoques multi-résistantes, Pseudomonas</b>
<b>Chloramphénicol</b>	<b>Acétylation</b>	<b>Gram + et Gram -</b>
<b>Aminosides</b>	<b>Modification des protéines cibles ribosomales</b>	<b>Streptocoques</b>
	<b>Enzymes d'inactivation</b>	<b>Staphylococcus, entérobactéries</b>
<b>Macrolides Incossamines Streptogramines</b>	<b>Méthylation de l'ARNr</b>	<b>Gram +</b>
<b>Quinolones</b>	<b>Modification de l'ARN gyrase</b>	<b>Gram + et Gram -</b>
<b>Rifampicine</b>	<b>Mutation de l'ARN polymérase</b>	<b>Gram + et Gram -</b>
<b>Tétracycline</b>	<b>Efflux</b>	

➤ **Les bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) :**

Les bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) sont des enzymes qui confèrent une résistance à une vaste gamme de bêtalactamines (pénicilline, 1ère, 2ème et 3ème génération de céphalosporines, à l'aztréonam) mais non aux céphamycines et carbapénèmes par l'hydrolyse de ces antibiotiques (Nauciel, C. ; 2000).

L'intérêt essentiel des huiles essentielles dans le traitement des infections est dû à leur composition complexe (poly moléculaire), l'inconvénient majeur des antibiotiques (mono produit) dans le cadre des actions antibactériennes, est l'apparition des souches bactériennes multi résistantes aux antibiotiques.



*Chapitre V :*  
*Généralité sur les*  
*antibiotiques*

**V.1. Définition :**

Les antibiotiques sont des substances élaborées par des microorganismes, ou des substances synthétiques, et qui sont bactériostatiques ou bactéricides à faible dose.

Leurs cibles d'activité sont des structures moléculaires spécifiquement bactériennes. Elles ont donc une toxicité sélective pour les cellules procaryotes et une toxicité faible pour les cellules eucaryotes (**FAUCHERE et AVRIL, 2002**).

**Tableau 03:** Antibiotiques bactériostatiques et bactéricides (**PAUL et al., 2008**).

Bactériostatique	Bactéricide
macrolides	$\beta$ -lactames
sulfamides	fluoroquinolones
tétracyclines	aminoglycosides
lincosamides	nitroimidazoles
nitrofuranes	glycopeptides (bactéricidie lente)
phénicolés	polymyxines
ethambutol	synergistines
cyclosérine	ansamycines
Rifamycines	acide fusidique
	isoniazide
	pyrazinamide

**V.2. Classification des antibiotiques :**

La classification des antibiotiques n'est pas aisée, ils sont classés selon plusieurs bases (**JOFFIN et GUY, 2001**). Certains ont voulu grouper les antibiotiques en fonction de leur site d'action : paroi, membrane, acide nucléiques, protéines, ...etc. D'autres se sont basés sur le spectre d'activité : antibiotiques à large spectre ou antibiotiques à spectre étroit. Il est également possible de classer les antibiotiques suivant leur origine (**LECLERC et al, 1983**). On classe également ces substances sur la base du groupe microbien qu'elles inhibent : antibactérien, antifongique, antiprotozoaire et antiviral. Cependant la classification chimique est la plus utilisée (**PRESCOTT et al, 2003**).

### V.2.1. Bêta-Lactamines :

Il s'agit de la famille la plus vaste et la plus complexe. Elle est caractérisée par le noyau  $\beta$ -lactame ; elle sera prise comme exemple des relations structures/fonctions des antibiotiques. Les antibiotiques de cette famille ont un mécanisme d'action identique: ils inhibent la synthèse du peptidoglycane de la paroi. On distingue : les pénicillines et les céphalosporines et des groupes de produits plus récents apparentés aux  $\beta$ -lactamines : Carbapénames et monobactames (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

#### 1) Pénicillines :

La pénicilline est le premier antibiotique qui fut découvert. Il est caractérisé par un noyau (cycle) thiazolidine accolé au noyau bêta-lactame. Les antibiotiques de ce groupe diffèrent entre eux par la nature de leur chaîne latérale, on distingue : pénicillines G, pénicilline M, pénicilline A, carboxypénicillines, Ureidopénicillines et Amidinopénicillines...etc (OUISSAT et BAKINI, 2009).

Selon la nature du substituant R, on obtient:

**La pénicilline G** ou benzyl pénicilline, produit historique qui reste encore actif sur certaines bactéries à Gram positif (Streptocoques, *Bacillus*...) mais son spectre est devenu assez étroit et elle a été supplantée par de nombreux produits dérivés à spectre plus large et à la pharmacologie plus intéressante.

**La pénicilline V** ou phénoxy-méthyl-pénicilline administrable par voie orale.

**La pénicilline M** (oxacilline, méticilline) intéressantes pour leur résistance à l'action des pénicillinases staphylococciques. De nombreuses souches de staphylocoques sont néanmoins devenues résistantes à ces produits par d'autres mécanismes.

**Les pénicillines A** ou amino-pénicillines (ampicilline, amoxicilline...) ont un spectre qui s'élargit vers les Gram négatif. Elles sont encore très largement utilisées notamment à cause de leur excellente diffusion.

**Les carboxypénicillines** (ticarcilline), les uréido-pénicillines (mezlocilline, piperacilline) et les amidino-pénicillines (pivmecillinam) sont caractérisés par une activité élargie aux *Pseudomonas* et à certains anaérobies stricts (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

## 2) Céphalosporines :

Les céphalosporines sont produits par un mycètes du genre *Céphalosporum*, qui fut isoler, en 1948. Ces molécules possèdent un cycle Bêta – lactame comme les pénicillines. En raison de similarité structurale, les céphalosporines agissent comme la pénicilline en inhibant la réaction de transpéptidation pendant la synthèse du peptidoglycane (**PRESCOTT et al, 2003**).

Les céphalosporines ont un spectre plus large que les pénicillines et résistent aux pénicillinases. Le radical R conditionne l'activité alors que R' conditionne la pharmacologie des dérivés. Selon la nature de ces deux substituants, un grand nombre de produit ont été synthétisés.

**Les céphaosporines de première génération** (céfalotine, céfazoline, cefradine, céfaclor) comprennent des produits surtout actifs sur les Gram positif (sauf les entérocoques).

**Les céphaosporines de deuxième génération** (céfamandole, céfatian, céfoxitine, céfuroxime, céfotétan ) ont n spectre étendu vers les entérobactéries.

**Les céphaosporines de troisième génération** (céfotaxime, cefsulodine, céfopérazone, ceftazidime, ceftriaxone, ceppirome, latamoxef, céfépime) constituent un groupe de très nombreux produits surtout actifs sur les Gram négatif avec des CMI basses. Elles sont résistantes à beaucoup de B lactames et ont une très bonne diffusion dans nombreux sites inaccessibles aux autres céphalosporines (**FAUCHERE et AVRIL, 2002**).

### **Les Céphalosporines de quatrième génération :**

Restent actives chez les entérobactéries ayant acquis une résistance aux C3G par hyperproduction d'une céphalosporinase, inactives en cas des bêta-lactamases à spectre étendu.

**Exemple :** Cefepime, Cefpirome (**LIAZID, 2012**).

## 3) Autres Bêta- lactamines :

Les carbapénèmes sont représentés par l'imipenème caractérisé par le noyau carbapénem ou l'atome de soufre des pénicillines est remplacé par un carbone, ce qui renforce la liaison de l'antibiotique avec sa protéine cible .Il y a également une double liaison supplémentaire dans l'hétérocycle.

L'imipenème a un spectre très large incluant les entérobactéries multi résistantes, les *Pseudomonas* et les Gram positif (y compris les anaérobies et les entérocoques mais pas les Staphylocoques méticillino-résistants). Il est exceptionnellement résistant aux  $\beta$ -lactamase, il

est par contre rapidement dégradé et, employé seul, il induit rapidement l'émergence de mutants résistants.

Les monobactames (aztréonam) ont un spectre réduit aux bactéries à Gram négatif (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

### V.2.2. Aminoglycosides :

Ces antibiotiques contiennent un noyau cyclohexane et de sucres aminés. Les aminoglycosides se fixent sur la petite sous unité ribosomiale et interfèrent avec la synthèse protéique et ils provoquent également des erreurs de lecture du message génétique porté par l'ARNm. Ils sont bactéricides et tendent à être plus actifs contre les bactéries pathogènes Gram négatif (PRESCOTT et al, 2003).

Les aminosides comprennent des molécules comme la néomycine, la kanamycine, la gentamicine et la streptomycine, connues depuis plusieurs décennies et utilisées pour contrôler une grande variété de bactéries (PIERRE, 2012).

Les aminosides ont un spectre large englobant les Gram positif et les Gram négatif. De nombreuses souches ont cependant développé des résistances par sécrétion d'enzymes (Acétylases, Adénylases...) modifiant la molécule d'antibiotique. Ils sont inactifs sur les anaérobies stricts.

Trois groupes sont individualisés au sein des aminosides:

- ✓ Le groupe de la streptomycine;
- ✓ Le groupe de la néomycine;
- ✓ Le groupe de la kanamycine (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

### V.2.3. Tétracyclines :

Les tétracyclines ont en commun une structure formée de quatre cycles hexagonaux. Par modification de cette structure de base, on a obtenu des produits dont les spectres sont relativement identiques mais dont la pharmacologie est variable.

L'intérêt majeur de ces produits est leur bonne diffusion intracellulaire qui en fait des antibiotiques de choix pour traiter les infections à bactéries intracellulaires (*Brucella*, *Chlamydia* notamment). La minocycline et la doxycycline sont les cyclines les plus utilisées (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

**V.2.4. Macrolides :**

L'érythromycine, est le macrolide le plus fréquemment employé, est synthétisée par *Streptomyces erythraeus*. Les macrolides ont un cycle lactone de 12 à 22 carbones associé à un ou plusieurs sucres. L'érythromycine est habituellement bactériostatique et se fixe sur l'ARNr 23S de sous unité 50 S du ribosome pour inhiber l'élongation de la chaîne peptidique pendant la synthèse protéique (**OUISSAT et BAKINI, 2009 ; PRESCOTT et al, 2003**).

**V.2.5. Glycopeptides :**

Ces antibiotiques ont une structure complexe hétérocyclique associant une partie peptidique, une partie osidique et des chaînes d'acides gras. Leur spectre est limité aux Gram positif. Les glycopeptides (vancomycine, teicoplanine) sont surtout utilisés en milieu hospitalier notamment pour traiter les infections à bactéries résistantes aux autres antibiotiques (staphylocoques méticillino-résistants **SARM**) (**FAUCHERE et AVRIL, 2002**).

**V.2.6. Rifamycines :**

La rifamycine est un antibiotique à spectre large incluant les mycobactéries. Il est dans la mesure du possible réservé au traitement de la tuberculose et des mycoactérioses. Ce produit a une remarquable diffusion y compris dans le compartiment intracellulaire. Utilisé seul, il induit rapidement l'émergence de mutants résistants (**FAUCHERE et AVRIL, 2002**).

**V.2.7. Sulfamides :**

Ils sont des analogues de structures de l'acide para-amino-benzoïque, ils sont un bon moyen pour inhiber ou pour tuer les microorganismes pathogènes. Ce sont des agents bactériostatiques agissant sur les germes en voie de multiplication, par inhibition compétitive (**LECLERC et al, 1983 ; PRESCOTT et al, 2003 ; OUISSAT et BAKINI, 2009**).

**V.2.8. Quinolones :**

Les quinolones sont des antibiotiques synthétiques possédant un noyau quinolone elles agissent en inhibant l'ADN-gyrase bactérienne ou la topoisomérase. Probablement, en se fixant sur le complexe ADN-gyrase, cette enzyme provoque des torsions négatives de l'ADN et facilite la réplication et la réparation de l'ADN. La transcription, la séparation du chromosome bactérien durant la division et d'autres processus cellulaires impliquant l'ADN (**PRESCOTT et al, 2003**).

**V.2.9. Phénicols :**

Deux produits sont utilisés en thérapeutique: le chlorampénicol qui a été le premier antibiotique entièrement obtenu par synthèse et le thiamphénicol réputé moins toxique. Ces antibiotiques ont un spectre large incluant les anaérobies stricts. Ils ont été très utiles dans le traitement de la typhoïde. Aujourd'hui, leur avantage majeur réside dans leur excellente

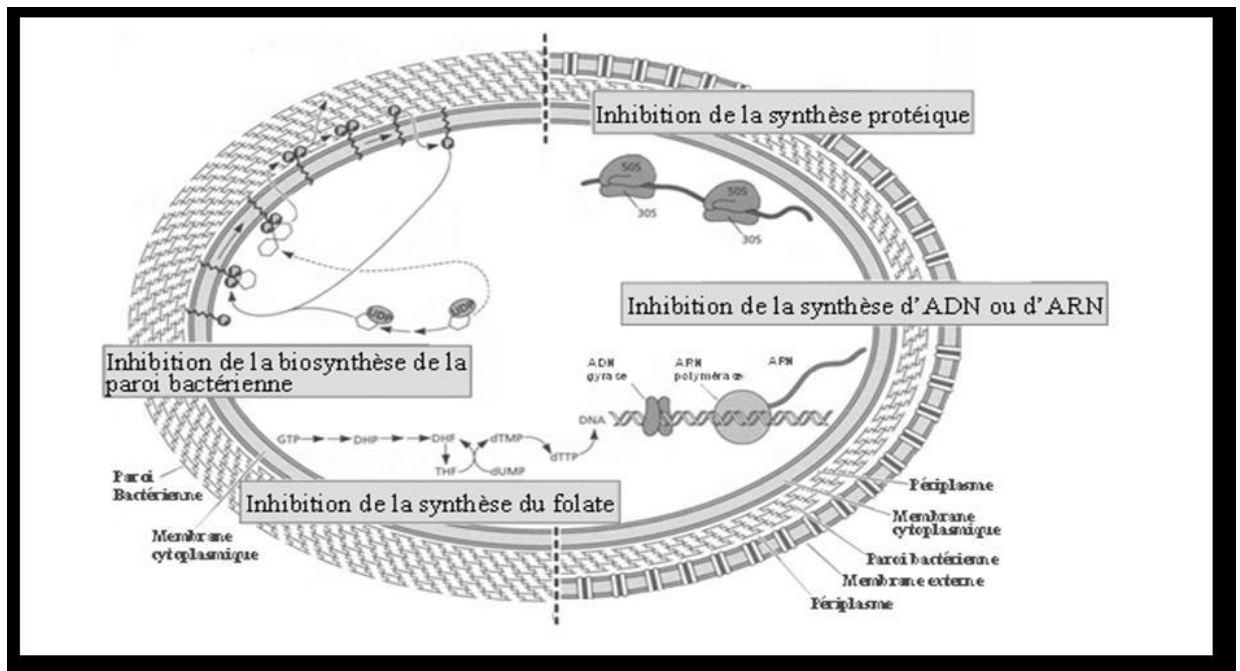


diffusion, y compris dans le compartiment intracellulaire. Cette propriété rend ces produits encore parfois utiles dans certaines méningites et les infections à bactéries intracellulaires.

Le chloramphénicol a été impliqué dans des accidents immuno-allergiques conduisant à des pancytopenies graves (FAUCHERE et AVRIL., 2002).

### V.3. Mode d'action des antibiotiques :

La connaissance du mode d'action des agents chimio thérapeutiques se révèle extrêmement utile (figure 04) (LECLERC et al, 1983).



**Figure 03** : Représentation schématique des quatre grandes classes de cibles antibactériennes (PARADIS-BLEAU, 2007).

#### V.3. 1. La synthèse de la paroi :

Les cellules eucaryotes animales ne possèdent pas de paroi. Les bactéries par contre sont entourées d'une coque en peptidoglycane, polymère de sucres réticulé par des ponts de nature peptidique. Plusieurs classes d'antibiotiques prennent pour cible des enzymes intervenant dans la synthèse de cette paroi. Dans cette catégorie, nous trouvons :

- ✓ les  $\beta$ -lactames, qui inhibent la transpeptidase intervenant dans la synthèse de la paroi;
- ✓ les glycopeptides, qui se lient à un intermédiaire de synthèse;
- ✓ quelques molécules d'intérêt mineur (fosfomycine, cyclosérine, bacitracine, acide fusidique, poly myxine et, dans une certaine mesure, la néomycine)(PAUL et al, 2008).

**V.3. 2. Synthèse (la réplication) des acides nucléiques et de leurs précurseurs :**

On distingue les antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse des ARN et d'autre part, sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs.

Les inhibiteurs de l'ARN polymérase sont représentés par la classe des ansamycines, tandis que les inhibiteurs de l'ADN-gyrase regroupent les quinolones.

Ces deux familles d'antibiotiques doivent leur spécificité d'action aux différences qui existent entre les enzymes procaryotes et eucaryotes et qui permettent la reconnaissance spécifique d'un type de cible exclusivement.

Les sulfamides agissent sur la synthèse de l'acide folique, un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques à incorporer dans les acides nucléiques. Leur spécificité d'action provient du fait que les eucaryotes ne synthétisent pas d'acide folique.

Les diaminopyridines inhibent la réduction de l'acide folique en tirant parti de la différence de sensibilité de la dihydrofolate réductase bactérienne par comparaison avec l'enzyme des cellules eucaryotes (PAUL *et al*, 2008).

**V.3. 3. Synthèse des protéines (La traduction) :**

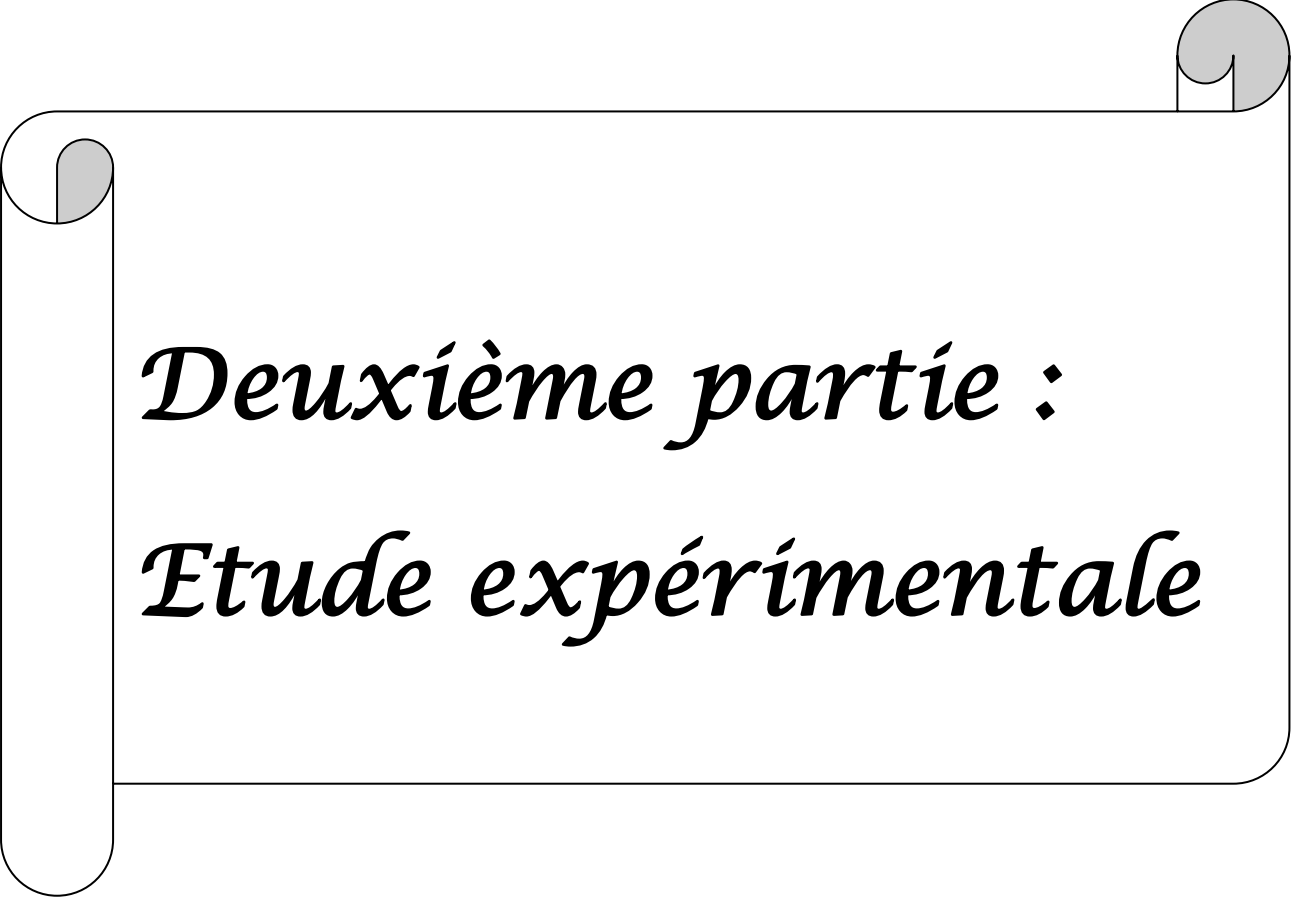
Les ribosomes procaryotes ne sont pas constitués des mêmes protéines que les ribosomes eucaryotes, et ont d'ailleurs des coefficients de sédimentation différents 70S pour les ribosomes procaryotes (50S pour la sous-unité lourde et 30S pour la sous-unité légère) et 80S pour les ribosomes eucaryotes (60S pour la sous-unité lourde et 40S

Pour la sous-unité légère)]. Il existe des inhibiteurs : De la sous-unité 50S, qui empêchent la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne en croissance (phénicolés) ou le transfert de la chaîne en croissance du site A vers le site P (macrolides, lincosamides, streptogramines).

De la sous-unité 30S, qui empêchent ou perturbent la liaison des aminoacyl-ARNt aux ribosomes (tétracyclines, aminoglycosides) (PAUL *et al*, 2008).

**V.3. 4. Membrane :**

Les polymyxines se fixent sur les phospho-lipides membranaires. Elles perturbent ainsi les transferts transmembranaires de nutriments et inhibent les phosphorylations oxydatives du métabolisme énergétique dont les enzymes se trouvent au niveau de la membrane cytoplasmique. Ces antibiotiques sont actifs sur les Gram négatif dont ils perturbent les deux systèmes membranaires (FAUCHERE *et AVRIL*, 2002).



*Deuxième partie :*  
*Etude expérimentale*



*Chapitre I :*  
*Matériel et*  
*méthodes*

Notre stage pratique a duré pendant une période de 06 mois (mois de février jusqu'à mois de juillet) au sein du laboratoire de Bactériologie de Boufarik, le Laboratoire d'Analyses Médicales de Blida<sup>1</sup> et le Laboratoire de Biologie (PFE) de l'université de Blida. Pendant cette période nous avons réalisé :

- L'Examen cytbactériologique des urines (ECBU)
- L'Examen cytbactériologique des Pus (ECBP)
- Etude de l'antibiogramme
- Extraction des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* par le procédé d'hydro-distillation au PFE à l'université de Blida 1
- Et déterminer le spectre antibactérien de l'huile essentielle vis-à-vis d'une population bactérienne provenant d'infections cliniques (Bactériologie-CHE Boufarik).

### **1-Matériel utilisé :**

#### **1.1. Matériel non biologique :**

Voir Annexe II.

#### **1.2- Matériel biologique :**

##### **1.2.1. Matériel végétal :**

###### **➤ Récolte :**

Notre étude porte sur l'armoise blanche (partie aérienne), récoltée durant le mois février dans la région de Bordj Bou Arreridj (le matin). La localisation géographique et les caractéristiques écologiques de la station d'étude sont représentées dans **le tableau 04**.

**Tableau 04: Localisation et caractéristiques écologiques de la station d'étude (Météo d'Alger, Dar el Beida)**

Station	Climat	Latitude	Longitude	Altitude(m)
Bordj Bou Arreridj	Semi -aride	36°04	04°40 EST	928M

---

<sup>1</sup> - Laboratoire du Dr BENHALAL situé à Ouled aiche

➤ **Identification botanique de la plante :**

L'identification des échantillons est faite par deux docteurs en phytothérapie respectivement Dr : NASLEDJE S. Professeure à l'université de Sétif, et Dr MAHMODI Y. Médecin phytothérapeute à Blida.

➤ **Séchage :**

La matière végétale a été séchée à la température ambiante, à l'abri de la lumière afin d'éviter la photo-oxydation des substances, et dans un endroit bien aéré pour éviter la prolifération des moisissures pendant 07 à 10 jours.

Le broyage a été réalisé à l'aide d'un moulin électrique, et la conservation a été faite dans des boîtes hermétiquement fermées (**Figure 05**).



**Figure 04 : Poudre utilisé (Photo Originale, 2014)**

**1.2.2. Souches bactériennes utilisées :**

L'activité antibactérienne a été évaluée sur des souches pathogènes isolées à partir des prélèvements biologiques (urines et pus) des patients hospitalisés à l'hôpital de Boufarik ou externes et d'autres patients du laboratoire privé des analyses médicales (Dr. Benhalal).

Toutes ces souches ont été conservées dans des milieux de conservation.

**2- Méthodes :**

**2.1. Extraction des huiles essentielles :**

La plante est séchée à l'ombre pendant une semaine. L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par le procédé d'hydro-distillation au niveau de laboratoire du PFE (département de biologie) ; 360g de la plante sèche (broyé et répartie sur deux extractions) est introduite dans un ballon de deux litres rempli d'eau distillée, l'ensemble est porté à l'ébullition pendant

3 heures. Les vapeurs chargées d'huile ; en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité (**figure 06**).

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 conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4-5 C°).



**Figure 05 : Montage d'hydro-distillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle.**

### 2.2. Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{PHE}{PP} \times 100$$

**R** : Le rendement en % / **PHE** : le poids de l'huile essentielle obtenu / **PP** : le poids de la matière sèche.

### 2.3. Examen cytobactériologique des urines (ECBU) :

L'arbre urinaire est normalement stérile, à l'exception des derniers centimètres de l'urètre distal qui sont colonisés par une flore diverse d'origine digestive (entérobactéries, streptocoques, anaérobies), cutanée (staphylocoques à coagulase négative, corynébactéries) et génitale (lactobacilles chez la femme) (**F. CARON et al ; 2014**)

**A. Conditions de transport et de conservation :**

Dans l'idéal, les urines recueillies dans un récipient stérile doivent êtreensemencées dans les 20 minutes.

Elles ne doivent jamais être conservées plus de 2 heures à température ambiante ou, à défaut, conservées à +4°C pour une durée maximale de 24 heures. (F.CARON *et al* ; 2014)

**B. Interprétation de l'ECBU :**

Il est indispensable que toute demande d'ECBU soit accompagnée des renseignements cliniques nécessaires à son interprétation : modalités de prélèvements (milieu de jet, ponction sus-pubienne, sondage), contexte de prescription (IU, bilan pré-interventionnel), terrain (antécédents, grossesse, immunodépression grave), antibiothérapie récente. Dans l'optique des « antibiogrammes restreints », ces renseignements cliniques seront également nécessaires pour adapter la liste des antibiotiques testés pertinents à rendre aux prescripteurs. (F. CARON *et al* ; 2014)

**Tableau n°05: Interprétation de l'ECBU**

Leucocytes/ml (leucocyturie)	UFC/ml (bactériurie)	Interprétation
$< 10^4$	$\leq 10^3$	Absence d'infection urinaire
$> 10^4$	$>10^5$	Présence d'une infection urinaire
$< 10^4$	Entre $10^3$ et $10^5$	Début d'une infection ou surtout un prélèvement contaminé
$> 10^4$	$<10^3$	Leucocyturie sans bactériurie

**C. Conduite de l'examen :**

- ❖ **ASPECT MACROSCOPIQUE** : Limpide ou trouble, couleur (hématurique ?), présence de sédiment ?
- ❖ **Cytologie** : Leucocytes : présence de plus de  $10^4$ /ml de leucocytes ou plus de 10/mm<sup>3</sup> (attention à l'expression du résultat). Noter l'éventuelle altération des cellules.



❖ **Autres cellules** : toujours regarder la présence ou l'absence de :

- cellules rénales
- cylindres (hyalins, hématiques, leucocytaires, granuleux)
- cellules épithéliales (ex cellules vaginales)
- cristaux : urate, phosphate ammoniac, magnésien, oxalate de calcium,...

(M. Archambaud, D. Clave ; 2008)

❖ **Examen direct** :

**État Frais** : noter la présence de bactéries et leur éventuelle mobilité. Il est difficile de s'engager plus sur un résultat uniquement sur cet examen.

(M. Archambaud, D. Clave ; 2008)

- La présence de bactéries à l'examen direct correspond le plus souvent à une bactériurie de l'ordre de  $10^5$  UFC/ml pour les urines non centrifugées. Un examen direct négatif n'exclut donc pas le diagnostic d'IU.
- La coloration de Gram peut aider à orienter le traitement antibiotique en décrivant les bactéries observées ou inciter à refaire le prélèvement selon le caractère mono- ou poly-microbien de la bactériurie.
- Elle permet de plus d'objectiver la présence de cellules épithéliales qui, lorsqu'elles sont présentes en grande quantité, signent un prélèvement de mauvaise qualité et s'accompagnent généralement d'une contamination par la flore péri-urétrale.
- Une bactériurie sans leucocyturie doit faire évoquer par ordre de fréquence une contamination (mauvaises conditions de prélèvements), une colonisation urinaire, une IU débutante, et plus rarement une IU chez le patient neutropénique.

(F. CARON *et al* ; 2014)

#### **D. Mise en culture :**

Sur des milieux normaux usuels ou chromogènes (ont l'avantage de faire une identification directe des bactéries le plus souvent impliquées dans les infections urinaires).

La culture a une valeur de confirmation. Elle est toujours nécessaire pour préciser l'espèce bactérienne, quantifier la bactériurie et effectuer un antibiogramme. Au-delà de deux types de colonies différentes, l'analyse n'est pas poursuivie (sauf situation très particulière, en concertation avec le clinicien).

En effet, les infections poly-microbiennes d'origine communautaires sont rares.

(F. CARON *et al* ; 2014)

## **E. Bandelettes réactives chimiques :**

### **E.1. Conditions de prélèvement :**

Ces bandelettes, communément appelées bandelettes urinaires (BU) permettent de détecter simultanément et rapidement une leucocyturie et une bactériurie.

Comme pour l'ECBU, le prélèvement d'urines doit être réalisé à partir du deuxième jet urinaire. En revanche, une toilette périnéale préalable n'est pas nécessaire. La bandelette doit être trempée dans des urines fraîchement émises, dans un récipient propre et sec mais non stérile. La lecture doit se faire à température ambiante, 1 ou 2 minutes (selon les tests) après le trempage. L'utilisation de la BU suppose le respect des délais de péremption et des conditions de conservation. (F. CARON *et al* ; 2014)

### **E.2. Interprétation :**

#### ➤ LEUCOCYTES :

Les leucocytes sont mis en évidence grâce à la détection d'un leucocyte estérase provenant à la fois des leucocytes intacts et des leucocytes lysés, témoignant d'une inflammation. Le seuil de détection est d'environ  $10^4$  leucocytes par mm<sup>3</sup>.

#### ➤ NITRITES :

Les bactéries produisant une nitrate réductase sont détectées par la recherche de nitrites. La principale limite de ce test est qu'il ne peut détecter que les entérobactéries (toutes productrices de nitrate réductase) et non les bactéries à Gram positif telles que les entérocoques et les staphylocoques. (F. CARON *et al* ; 2014)

## **F- Coloration de Gram :**

### **Principe :**

Le principe de cette coloration est basé sur la structure de la paroi et permet de préciser le type morpho-tinctorial du germe. La coloration de gram permet de diviser le monde bactérien en deux groupes, Les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif pour apprécier leur morphologie et leur mode de regroupement.

### **Technique :**

- Prendre une lame propre.
- Mettre une goutte d'eau stérile sur la lame
- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur stérile la colonie à identifier.
- Etaler la colonie sur la lame à l'aide de la pipette.
- Fixer à la flamme du bec Bunsen.
- Recouvrir le frottis du violet de Gentiane, et laisser agir pendant une minute.

- Rincer abondamment à l'eau.
- Recouvrir le frottis avec le lugol et laisser agir pendant 45 secondes.
- Rincer abondamment à l'eau.
- Décolorer à l'alcool acétone pendant 20 secondes.
- Rincer à l'eau.
- Recolorer avec la fushine diluée pendant une minute.
- Rincer à l'eau.
- Egoutter puis sécher au papier buvards.
- Mettre une goutte d'huile à immersion le frottis.
- Observer au microscope à l'objectif 10 ×100

### **G-Galerie biochimique API 20 :**

La galerie API 20 est un système pour l'identification des entérobactériaceae et entérobacilles à gram négatif, utilisent 23 testes biochimique standards et miniaturisées, ainsi qu'une base de données.

### **H- Antibiogramme :**

#### ▪ **Objectif :**

Rechercher, in vitro, la sensibilité d'une souche bactérienne aux antibiotiques.

L'antibiogramme est un test (Antimicrobial Susceptibility Testing ou AST en anglais).

#### ▪ **Réalisation de l'antibiogramme**

On utilise la technique des disques par diffusion en gélose Disques de papier buvard imprégnés de l'antibiotique à tester

- Dépôt à la surface d'un milieu de culture gélosé
- Ensemencé par une culture pure de la souche étudiée
- Diffusion de l'antibiotique selon un gradient
- Après incubation, création d'une zone d'inhibition

#### ▪ **Résultat :**

Mesure de la sensibilité d'un germe aux antibiotiques :

- Mesure soit de la CMI (concentration minimale inhibitrice) (quantitative) soit d'un diamètre d'inhibition (mesure semi- quantitative)
- Les résultats seront rendus de façon qualitative en "sensible", "intermédiaire" ou "résistant" (S, I, R)

Les Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les Entérobactéries et la *Pseudomonas aeruginosa* sont données par les **tableaux 09,10 et 11 (Voir annexe)**

## **2.4. Examen Cytobactériologique des Pus :**

### **A• Contextes :**

Les suppurations fermées peuvent avoir plusieurs localisations : abdominale, pelvienne, buccale, cérébrale, cervicale, ostéo-articulaire, cellulaire sous-cutané.

Il peut s'agir d'une infection :

- ❖ par contiguïté, à partir d'une flore commensale
- ❖ post-traumatique ou secondaire à des manœuvres chirurgicales
- ❖ secondaire à une métastase septique

### **B• Les prélèvements :**

Prélèvements sont d'origine très diverse. La mise en évidence des bactéries pathogènes dépend de la localisation de la suppuration (proche ou non d'une flore commensale), du mode de prélèvement (seringue, biopsie) et du mode de transport.

Le prélèvement se fait :

- soit à la seringue purgée d'air en évitant de le contaminer par la flore commensale ;
- soit lors d'une biopsie (os, tissus).

Le produit pathologique étant souvent poly-microbien, il est important d'éviter pendant le transport qu'une bactérie puisse se développer au détriment d'une autre.

### **C• Examens bactériologiques :**

- **L'examen direct après coloration de Gram** permet d'apprécier l'importance des polynucléaires, l'aspect mono-microbien ou poly-microbien de la suppuration.
- **La mise en culture** nécessite l'utilisation de milieux spécifiques et l'incubation dans différentes atmosphères (aérobie, anaérobie, CO<sub>2</sub>) :

- Gélose au sang, incubée en aérobiose, pour la recherche des germes aérobies ;
- Gélose au sang cuit + isovitalex, incubée sous CO<sub>2</sub>, pour la culture des bactéries du groupe HACEK ;
- Gélose au sang désoxygénée et incubée en anaérobiose;
- Un bouillon anaérobie.

A ces milieux, on peut ajouter des milieux spécifiques:

- Gélose lactosée sélective (désoxycholate), incubée en aérobiose, pour la culture des différentes bactéries à Gram négatif ;
- Gélose Schaedler au sang et antibiotiques (néomycine 75 mg/l et vancomycine

7,5 mg/l) pour les bacilles à Gram négatif anaérobies ;

- Gélose au sang + ANC ou Néomycine pour les bactéries à Gram positif anaérobies.

La durée de l'incubation est variable. Les cultures sont examinées après 24 et 48 h d'incubation. Dans certains contextes, l'incubation doit être prolongée.

**(FLANDROIS J.P., CHOMARAT M. in Medsi/Mc Graw 1988)(SÉDALLIAN A., 1988)(ZAMBARDI G., in J. Freney et al. 1995)**

**D. Antibiogramme :** (voir antibiogramme dans la technique ECBU).

**D.1. 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

**D.1.1. Recherche de la  $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE) chez les Entérobactéries:**

**1. Définition :**

BLSE = enzymes «  $\beta$ -lactamases » à spectre étendu produites par les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacterspp.*, entraînant une diminution de l'activité des C3G (céfotaxime CTX, ceftriaxone CRO, ceftazidime CAZ) et des monobactames (aztréonam ATM), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine FOX, moxalactam) ni des carbapénèmes (imipénème IPM).

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes:

- \* Cefotaxime (CTX à 27mm),
- \* Ceftazidime (CAZ à 22mm),
- \* Ceftriaxone (CRO à 25mm),
- \* Aztréonam (ATM à 27mm).

**2. Méthodes de détection de la BLSE :**

**2.1. Test de synergie :** inhibition des BLSE par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam).

**2-1-1-Entérobactérie :**

• **Technique :**

- La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque (AMC 20/10 $\mu$ g) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G (CTX 30 $\mu$ g ou CRO 30 $\mu$ g).
- Incuber 18H à 35°C.

- **Lecture :**

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques AMC et CTX / AMC et CRO (**Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale édition 2011, K.Rahal et al**)

## **2.5.- Mise en évidence de l'activité des HE en milieu solide :**

- **Préparation de l'inoculum :**

L'inoculum est obtenu à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures sur gélose non inhibitrice, quelques colonies bien isolées de la souche à étudier ont été prélevées de manière à réaliser une suspension dans l'eau distillée stérile afin d'obtenir une suspension bactérienne équivalente à celle de l'étalon 0.5 Mac Ferland (**Mighri, H. et al; 2010**).

- **Détermination de la concentration minimale d'inhibition (CMI) :**

### **1)-Préparation des dilutions d'HE dans le milieu de culture :**

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 à 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 que l'on agite fortement en utilisant le vortex pour une bonne dispersion de l'HE. A partir de cette dernière, on prépare des dilutions successives avec de l'eau distillée. On obtient ainsi différentes concentrations en HE ( $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ ).

Dans des tubes à essai, on ajoute 13,5 ml du milieu Mueller-Hinton (Gélose en surfusion) à 1,5 ml de la solution mère et à 1,5 ml des diverses dilutions. On obtient ainsi des concentrations en HE dans le milieu de culture de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ .

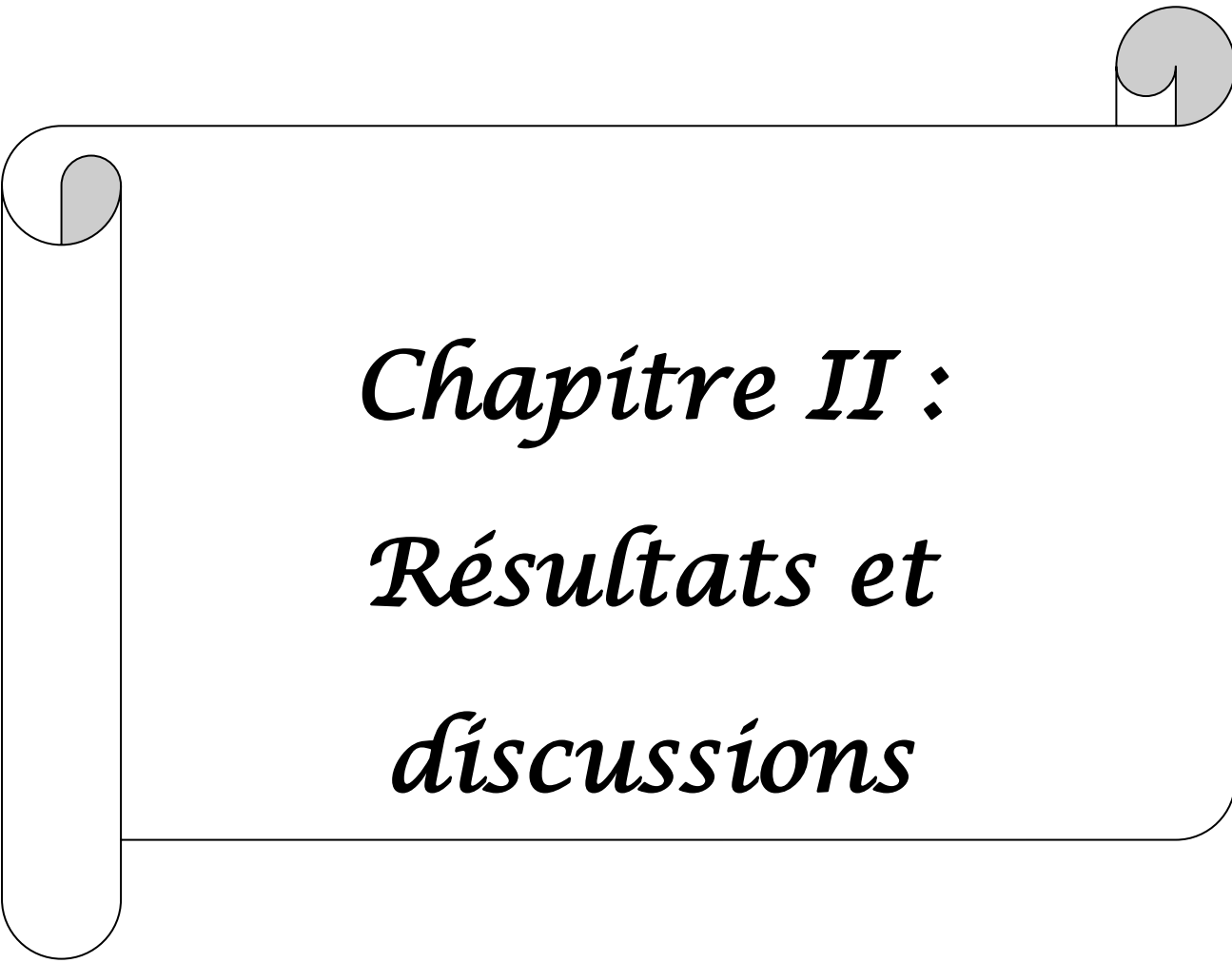
Le tube témoin contenant 13.5 ml du milieu Mueller-Hinton et 1,5 ml de la solution A.

Les tubes à essai et le tube témoin sont bien agités au vortex puis leur contenu est versé dans des boîtes de Pétri.

### **1) Etape d'ensemencement :**

A la surface du milieu contenant les différentes dilutions d'HE, onensemence les bactéries par écouvillonnage. Les souches sont ensemencées séparément et en parallèle à raison de 5 à 6 /boîte de Pétri 90mm. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h.

La lecture de la CMI est la plus faible concentration d'huile essentielle inhibant toute croissance bactérienne.



*Chapitre II :*  
*Résultats et*  
*discussions*

### II.1.Résultats :

#### II.1.1.Etude cyto bactériologique des urines (ECBU) et Etude cyto bactériologique des pus (ECB P) :

##### A-Échantillonnage :

Nous avons travaillé sur **1262** échantillons prélevés de divers prélèvements (ECBU et ECB P), sur lesquels **258** sont positifs soit un taux de **20,45 %** (figure 07), et parmi eux on a trouvé **167** souches d'*E. coli* soit un taux de **65 %**.

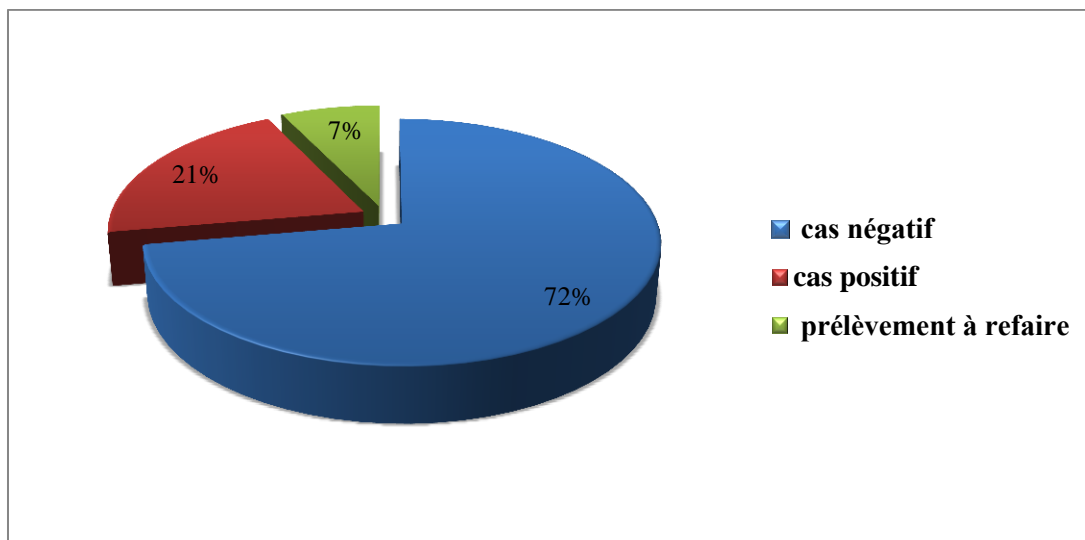
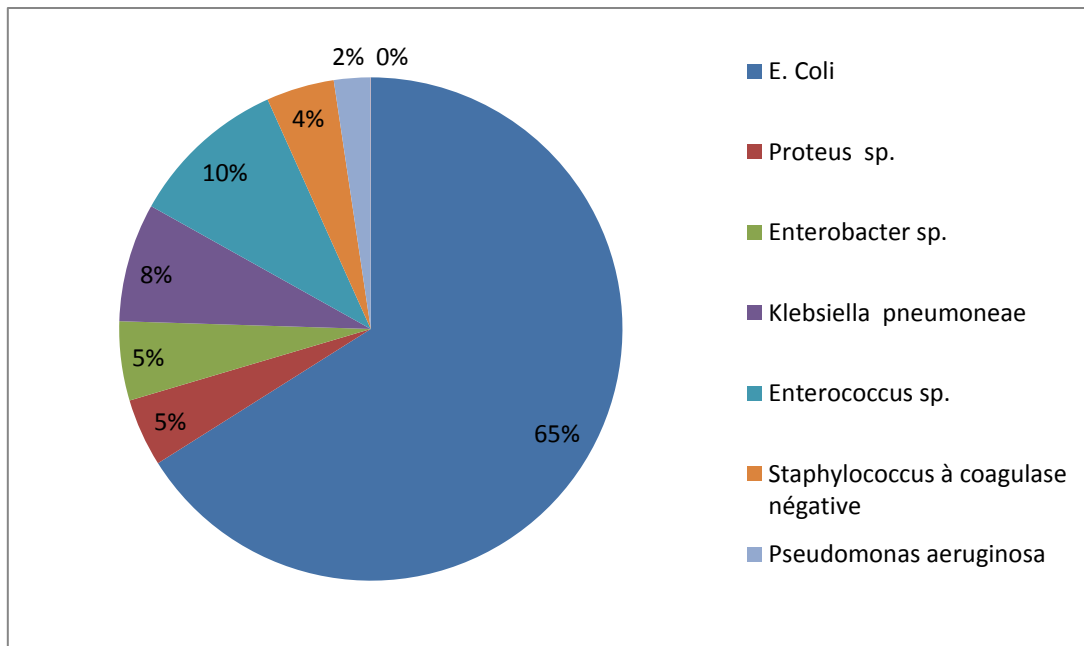


Figure 06. Répartition globale d'ECBU et d'ECBP

##### B-Fréquences des bactéries isolées et identifiées des prélèvements d'ECBU et d'ECBP :

*L'Escherichia coli* est le germe le plus fréquemment impliqué en pathologie infectieuse ce qui explique son taux de 65%, soit un nombre de 167 souches isolées, suivi d'*Enterococcus sp* avec un taux de 10% (26 souches identifiées), de *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de 8% (19 souches identifiées), d'*Enterobacter sp* avec un taux de 5% (13 souches identifiées) et de *Proteus sp* et *Staphylococcus à coagulase négative* avec un taux de 4% (11 souches identifiées pour chacune des deux espèces) (Figure 07)





**Figure 07. Fréquence des bactéries isolées et identifiées des prélèvements d'ECBU et d'ECBP.**

### C)- Etude de la résistance aux antibiotiques :

La résistance des souches étudiées a été mise en évidence vis-à-vis des antibiotiques testés appartenant à différentes familles (Voir **tableau 13 dans l'annexe**). Les taux de résistance observés sont variables en fonction des espèces étudiées vis-à-vis des ATB testés.

Les 22 souches bactériennes se sont révélées résistantes presque vis-à-vis à toute la gamme d'antibiotiques appartenant à plusieurs familles. Cependant le seul antibiotique Imipénème s'est montré actif vis-à-vis de toutes nos souches étudiées. Donc on peut considérer que toutes nos bactéries sont multi résistantes (voir tableau 14)

La détermination des tests complémentaires (test de Synergie) vis à vis de tous nos souches multi résistantes a mis en évidence la présence 04 *Klebsiella pneumoniae* (BLSE) et 03 *E.coli* (BLSE). Ces bactéries se sont révélées totalement résistantes à l'encontre de toute la gamme d'antibiotiques  $\beta$  LACTAMINES (**Figure 25 :Photos 1-8**)

## II-Résultats et discussions

**Tableau 06 : Pourcentage des bactéries isolées et identifiées des prélèvements d'ECBU et d'ECB de pus:**

Germes	Nombres d'échantillons positifs	Pourcentage
<i>E. Coli</i>	167	65 %
<i>Proteus sp.</i>	11	4.3 %
<i>Enterobacter sp.</i>	13	5 %
<i>Klebsiella pneumoneae</i>	19	7.5 %
<i>Staphylococcus épidermis</i>	01	0.4 %
<i>Staphylococcus</i> à coagulase négative	11	4.3 %
<i>Trichomonas vaginalis</i>	01	0.4 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	06	2.3 %
<i>Enterococcus sp.</i>	26	10 %
<i>Candida albicans</i>	01	0.4 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	01	0.4 %
<i>Staphylococcus</i> $\beta$ hémolytique	01	0.4 %

**Tableau 07 : Antibiogramme des germes étudiés en présence de différents antibiotiques.**

Numéros	échantillon	Age	Sexe	Service	Maladie	Souche	Antibiogramme	Fm
(1) BFK	PUS (Jambe)	81 ANS	Féminin	MIF	//	<i>E. Coli</i>	TIC75=0	$\beta$ lcm
							Cip5=0	Quin
							AMP10=0	$\beta$ lcm
							Fox30=25	$\beta$ lcm
							CHL30=0	Phen
							AKN30=24	Amin
							CN10=14	Amin
							CTX30=30	$\beta$ lcm
							AMC30=14	$\beta$ lcm
STX25=0	Sulf							
(2) BFK	Urines (ECBU)	22 ans	Féminin	Interne, maladies infectieuses	//	Streptocoque groupe D ( <i>enterococcus</i> )	PTN15=0	Macr
							RIF5=19	Autres
							CHL30=21	Phen
							TE30=0	Cyc
							E=19	Macr
							DA2=0	Autres
							AMP10=30	$\beta$ lcm
							LVX5=0	Quin
							VAN30=20	Glyc
GEN120=0	Amin							

## II-Résultats et discussions

(3) O/Y	URINES (ECBU)	30 ANS	Féminin	Externe	//	<i>Enterobacter SP.</i>	CS10=12	<b>Poly</b>
							SXT25=19	<b>Sulf</b>
							OFX5=33	<b>Quin</b>
							AKN30=23	Amin
							GMN10=21	Amin
							F300=17	<b>Nitrof</b>
							AUG30=0	$\beta$ lcm
							AMP10=0	$\beta$ lcm
							FOX30=0	$\beta$ lcm
							KZ30=0	$\beta$ lcm
							CTX30=32	$\beta$ lcm
CHL30=26	<b>Phen</b>							
(4) O/Y	ECBU	30 ANS	Féminin	EXTERNE	//	<i>E. Coli</i>	CZN30=17	$\beta$ lcm
							CTX30=29	$\beta$ lcm
							FOX30=23	$\beta$ lcm
							AMC30=0	$\beta$ lcm
							C30=0	<b>Phen</b>
							AMX25=0	$\beta$ lcm
							F300=22	<b>Nitrof</b>
							AK30=22	Amin
							GMN10=21	Amin
							OFX5=33	<b>Quin</b>
							CST50=15	<b>Poly</b>
SXT25=0	<b>Sulf</b>							
(5) BFK	Urines (ECBU)	41 ans	masculin	Externe	//	<i>Klebsiella pneumoneae (BLSE)</i>	CIP5=0	<b>Quin</b>
							IPM10=30	$\beta$ lcm
							CN10=12	Amin
							AKN30=22	Amin
							STX25=0	<b>Sulf</b>
							FOX30=28	$\beta$ lcm
							AMP10=0	$\beta$ lcm
							CTX30=10	$\beta$ lcm
							AMC30=17	$\beta$ lcm

## II-Résultats et discussions

(6) O/Y	Urines (ECBU)	87 ans	masculin	Externe	//	<i>E. Coli</i>	AMX25=0	βlcm
							C30=26	<b>Phen</b>
							FOX30=25	βlcm
							CTX=33	βlcm
							KZ30=21	βlcm
							F300=22	<b>Nitrof</b>
							CS10=12	<b>Poly</b>
							AK30=21	Amin
							SXT=8	<b>Sulf</b>
							FX5=7	βlcm
							GMN10=9	Amin
OFX=7	<b>Quin</b>							
(7) BFK	ECBU	82 ans	Féminin	Maladies infectieuses	//	<i>K.pneumoneae</i> (BLSE) (après test de confirmation)	AMC=11	βlcm
							AK=21	Amin
							SXT=0	<b>Sulf</b>
							AML=0	βlcm
							CIP=0	<b>Quin</b>
							CXT=25	βlcm
							CST=16	<b>Poly</b>
							CN10=19	Amin
							IPM=22	βlcm
FOX=0	βlcm							
(8) BFK	Urines (ECBU)	10 ans	masculin	Maladies Infectieuses Pédiatrie	//	<i>E.Coli</i>	AMP=0	βlcm
							TIC=0	βlcm
							FOX=29	βlcm
							CN10=21	Amin
							SXT=32	<b>Sulf</b>
							AK=25	Amin
							AMC=22	βlcm
							CTX=35	βlcm
							IPM=30	βlcm
CIP=36	<b>Quin</b>							

## II-Résultats et discussions

<b>(9)</b> BFK	PUS	48 ANS	Féminin	MEDCINE FEMME	//	<i>Pseudomonas aeruginosae</i>	TIC=0	βlcm
							IPM=30	βlcm
							PIP=0	βlcm
							CIP=25	<b>Quin</b>
							CAZ=0	βlcm
							AMC =0	βlcm
							AN =21	Amin
							CN=19	Amin
<b>(10)</b> O/Y	Urines (ECBU)	45 ans	Féminin	Externe	//	<i>E.Coli</i>	AUG=0	βlcm
							KZ=14	βlcm
							FOX=21	βlcm
							CTX=28	βlcm
							C=30	<b>Phen</b>
							AMX=0	βlcm
							F=21	<b>Nitrof</b>
							CS=11	<b>Poly</b>
							OFX5=22	<b>Quin</b>
							AK=22	Amin
							SXT=0	<b>Sulf</b>
							GMN=0	Amin
<b>(11)</b> BFK	ECBU	77 ANS	masculin	MI		<i>E.Coli</i> (BLSE)	CTX=0	βlcm
							AMC=21	βlcm
							TIC=0	βlcm
							AMP=0	βlcm
							CIP=0	<b>Quin</b>
							IMP=32	βlcm
							FOX=28	βlcm
							SXT=33	<b>Sulf</b>
							AKN=22	Amin
CN=13	Amin							

## II-Résultats et discussions

<b>(12)</b> BFK	ECBU	05 mois	masculin	Pédiatrie	Près- hospitalisé	<i>K.pneumoneae</i> (BLSE)	CTX=12	βlcm
							AMC=16	βlcm
							AK=20	Amin
							SXT=24	<b>Sulf</b>
							AMX=0	βlcm
							CN10=0	Amin
							CST=16	<b>Poly</b>
							FOX=25	βlcm
							IPM=30	βlcm
CIP=15	<b>Quin</b>							
<b>(13)</b> BFK	ECBU	51 ans	Féminin	Externe	//	<i>E.Coli</i>	CTX30=37	βlcm
							AMC30=22	βlcm
							CST50=16r	<b>Poly</b>
							SXT25=0	<b>Sulf</b>
							CZ30=23	βlcm
							IPM10=35	βlcm
							AML25=0	βlcm
							CN10=10	Amin
							CIP5=40	<b>Quin</b>
							NA30=27	Autres
AKN30=20	Amin							
FO200=40	βlcm							
<b>(14)</b> O/Y	ECBU	01 AN	masculin	externe	//	<i>Enterobacter</i>	FOX30=27	βlcm
							CEF30=0	βlcm
							AMP10=0	βlcm
							CHL30=0	<b>Phen</b>
							CTX30=0	βlcm
							AMC30=20	βlcm
							SXT25=0	<b>Sulf</b>
							AK30=23	Amin
							OFX5=22	<b>Quin</b>
							GMN10=20	Amin
							CST50=15	<b>Poly</b>
F300=16r	Nitrof							
<b>(15)</b> O/Y	ECBU	76 ANS	masculin	externe	Infection Urinaire répétitive par des multi R	<i>Entérobacter cloacae</i>	GMN10=0	Amin
							SXT25=0	<b>Sulf</b>
							AK30=31	Amin
							OFX5=19	<b>Quin</b>
							CST50=16	<b>Poly</b>
							F300=15	<b>Nitro f</b>
							C30=0	<b>Phen</b>
							CTX30=0	βlcm
							CZ30=0	βlcm
							AMP10=0	βlcm
AUG30=0	βlcm							
FOX30=24	βlcm							

## II-Résultats et discussions

(16) O/Y	ECBU	80 ans	masculin	externe	//	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	TI75=0	βlcm
							ATM30=0	βlcm
							TTC85=0	βlcm
							CAZ30=27	βlcm
							AK30=20	Amin
							IPM10=35	βlcm
							TOB10=0	Amin
							RD30=21	Autres
							CN10=0	Amin
							PRL100=0	βlcm
							OFX5=17	Quin
							CT10=13	βlcm
(17) O/Y	ECBU	49 ANS	Féminin	externe	Brûlures+ Dysurie+ Pollakiurie + Début Diabète (après traitement)	<i>Proteus SP.</i>	AUG30=17	βlcm
							FOX30=24	βlcm
							AMP10=0	βlcm
							C30=12	Phen
							KZ30=21	βlcm
							CTX30=35	βlcm
							STX25=7	Sulf
							CS10=0	
							F300=13	Nitrof
							OFX5=34	Quin
							AK30=21	Amin
							GMN30=20	Amin
(18) O/Y	ECBU	87 ans	masculin	externe	//	<i>E. Coli (BLSE) Synergie entre AMC et CTX</i>	AMC30=16	βlcm
							CTX30=0	βlcm
							C30=29	Phen
							CZN30=0	βlcm
							AMX25=0	βlcm
							FOX30=22	βlcm
							SXT25=0	Sulf
							CN10=0	Amin
							OFX5=0	Quin
							CST50=16	
							AK30=18	Amin
							F300=19	Nitrof

## II-Résultats et discussions

<b>(19)</b> O/Y	ECBU	01 an	masculin	externe	//	<i>E. Coli</i> (BLSE) (synergie entre AMC30 et CTX30)	CST50=16	<b>Poly</b>
							AK30=21	Amin
							AMX25=0	$\beta$ lcm
							SXT25=21	<b>Sulf</b>
							C30=25	<b>Phen</b>
							CZ30=0	$\beta$ lcm
							GMN10=9	Amin
							FOX30=24	$\beta$ lcm
							F300=22	<b>Nitrof</b>
							AMC30=15	$\beta$ lcm
							OFX5=27	<b>Quin</b>
CTX30=0	$\beta$ lcm							
<b>(20)</b> O/Y	URINES (ECBU)	34 ANS	Féminin	Externe	//	<i>E. Coli</i>	CS10=11	<b>Poly</b>
							STX25=15	<b>Sulf</b>
							OFX5 =0	<b>Quin</b>
							AK30=20	Amin
							GMN10=15	Amin
							F300=18	<b>Nitrof</b>
							AMP10=0	$\beta$ lcm
							AUG30=0	$\beta$ lcm
							C30=7	<b>Phen</b>
							FOX30=23	$\beta$ lcm
							CTX30 =31	$\beta$ lcm
KZ30=18	$\beta$ lcm							
<b>(21)</b> O/Y	ECBU	64 ans	Féminin	externe	//	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	F300=13	<b>Nitrof</b>
							CST50=15	
							SXT25=0	<b>Sulf</b>
							AK30=21	Amin
							OFX5=0	<b>Quin</b>
							CN10=8	Amin
							AMX25=0	$\beta$ lcm
							CTX30=25	$\beta$ lcm
							C30=0	<b>Phen</b>
							AMC30=0	$\beta$ lcm
							FOX30=24	$\beta$ lcm
CZN30=13	$\beta$ lcm							



## II-Résultats et discussions

(22) BFK	ECBU	78 ANS	masculin	EXTERNE (ex .sondé)	EX Sondé	<i>K.pneumoniae</i> BLSE	TIC=0	βlcm
							CIP=0	<b>Quin</b>
							CN=0	Amin
							AKN=24	Amin
							SXT=16	<b>Sulf</b>
							IPM=27	βlcm
							FOX=15	βlcm
							AMP=0	βlcm
							CTX30=0	βlcm
							AMC30=15	βlcm

### II.1.2. *Artemisia herba alba* :

#### A. Extraction et Rendement :

Les rendements moyens en huile essentielle (HE) ont été exprimés en millilitre par rapport à 100 g de végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Le rendement moyen en huile essentielle obtenue avec l'espèce *Artemisia herba alba* est de 0.63%.

#### B. Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle:

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artémisia herba alba* sont regroupés dans le **tableau 08** :

L'huile essentielle d'*Artémisia herba* s'est montrée active et a inhibé tous les microorganismes Gram+ et Gram- à la concentration SM (solution mère) sauf les souches bactériennes numéros 01 et 09 (*E. Coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (origine pus)) qui ont présenté une forte résistance

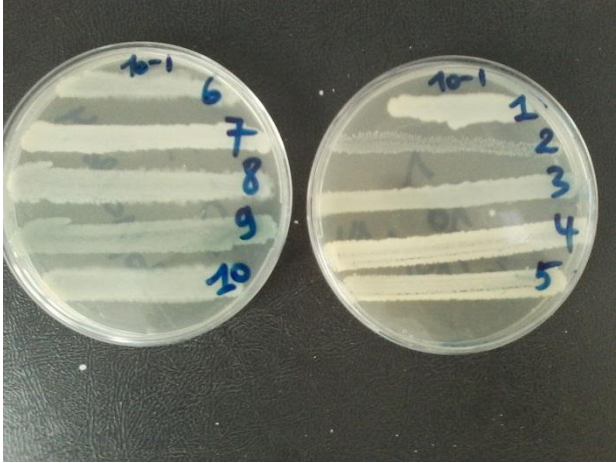
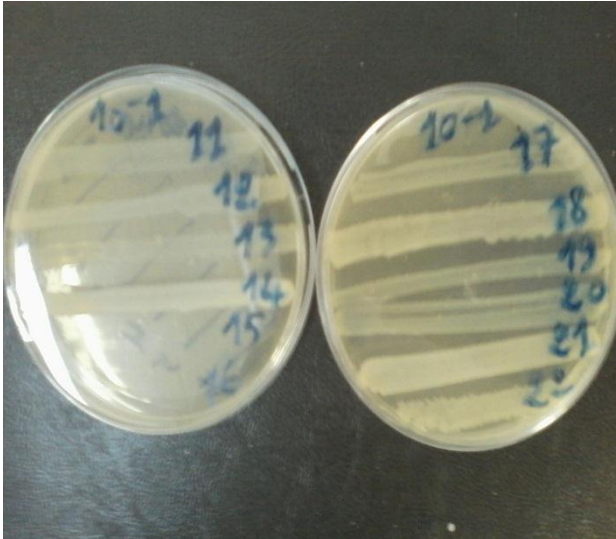
A partir de la dilution  $10^{-1}$  jusqu'à la dilution  $10^{-5}$ , toutes les bactéries cibles se sont montrées résistantes traduites par une forte croissance, sauf les souches bactériennes numéros 15 et 16 (*Entérobacter cloacae* et *Pseudomonas aeruginosa* (origine ECBU)) qui ont présenté une forte sensibilité vis-à-vis de cette concentration.

## II-Résultats et discussions

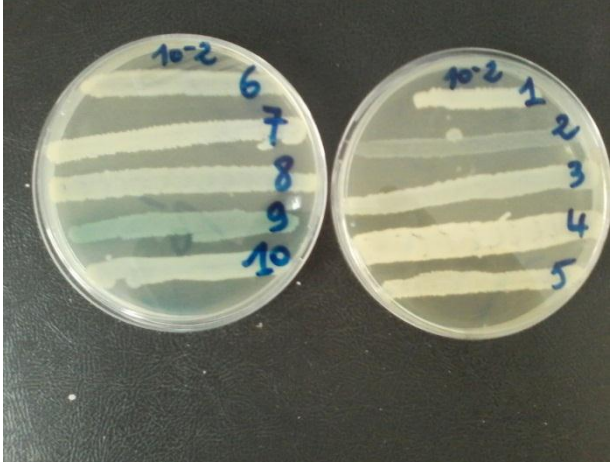
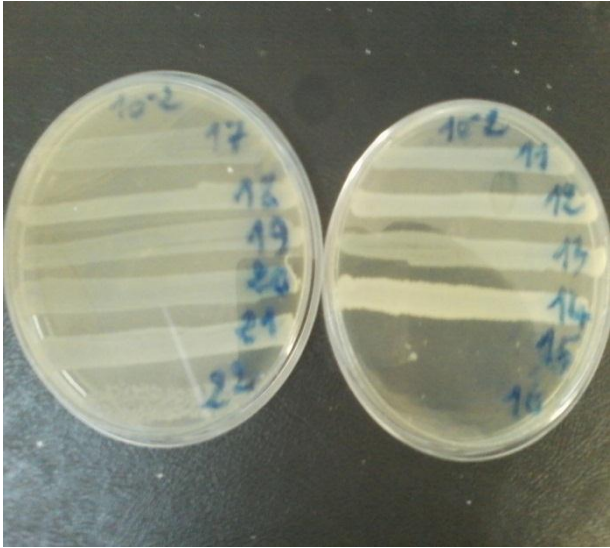
**Tableau 08:** Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

Concentrations testées	Souche bactérienne	Résistance des souches	Photos des résultats
Solution mère (SM)	01	+++	
	02	-	
	03	-	
	04	-	
	05	-	
	06	-	
	07	-	
	08	-	
	09	+++	
	10	-	
	11	-	
	12	-	
	13	-	
	14	-	
	15	-	
	16	-	
	17	-	
	18	-	
	19	-	
	20	-	
	21	-	
	22	-	

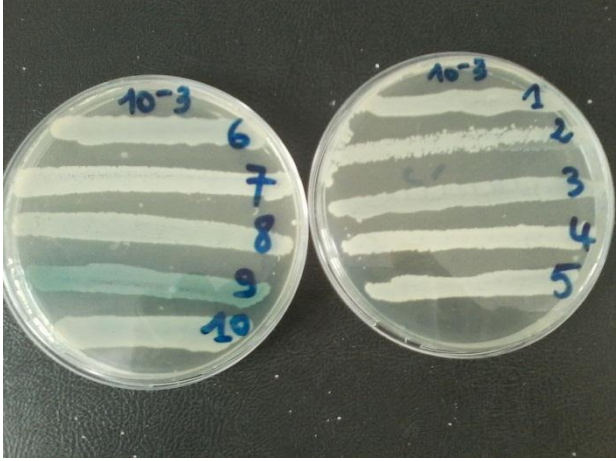
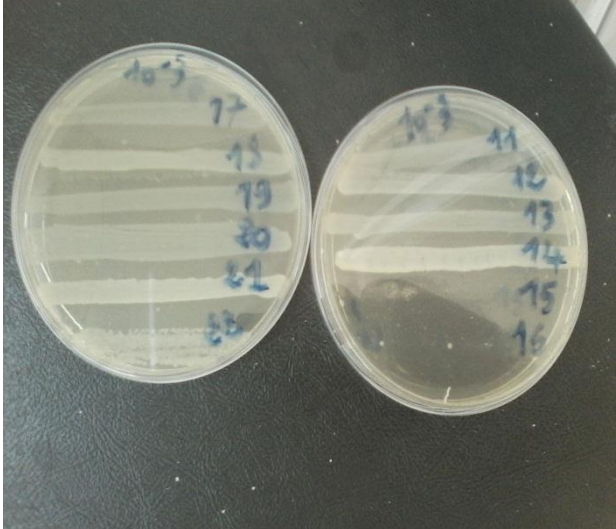
## II-Résultats et discussions

Concentrations testées	Souche bactérienne	Résistance des souches	Photos des résultats
<i>Solution 10<sup>-1</sup></i>	01	+++	
	02	+++	
	03	+++	
	04	+++	
	05	+++	
	06	+++	
	07	+++	
	08	+++	
	09	+++	
	10	+++	
	11	+++	
	12	+++	
	13	+++	
	14	+++	
	15	-	
	16	-	
	17	+++	
	18	+++	
	19	+++	
	20	+++	
	21	+++	
	22	+++	

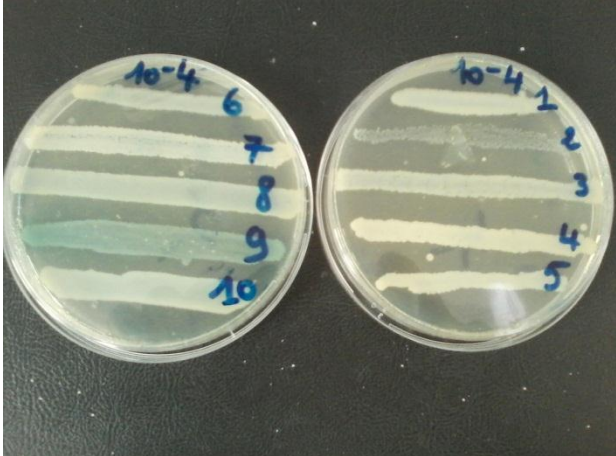
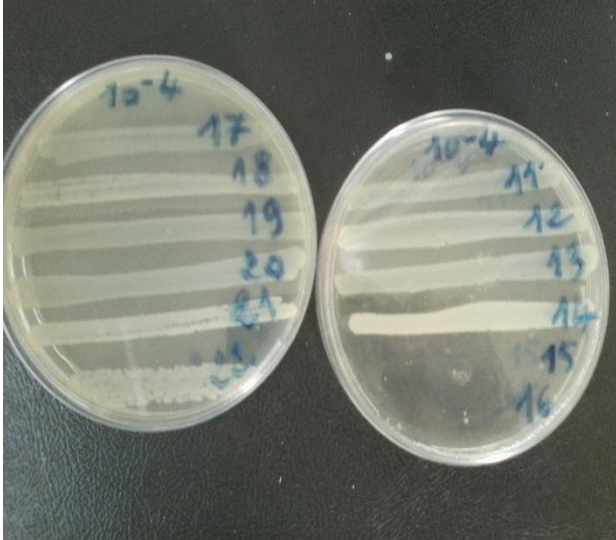
## II-Résultats et discussions

Concentrations testées	Souche bactérienne	Résistance des souches	Photos des résultats
<i>Solution 10<sup>-2</sup></i>	01	+++	
	02	+++	
	03	+++	
	04	+++	
	05	+++	
	06	+++	
	07	+++	
	08	+++	
	09	+++	
	10	+++	
	11	+++	
	12	+++	
	13	+++	
	14	+++	
	15	-	
	16	-	
	17	+++	
	18	+++	
	19	+++	
	20	+++	
	21	+++	
	22	+++	

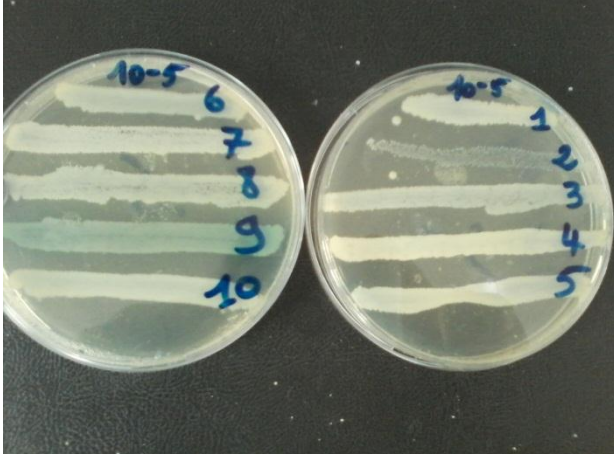
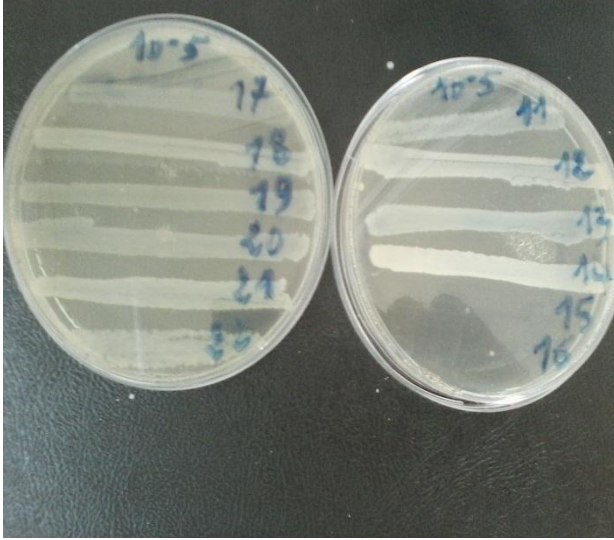
## II-Résultats et discussions

Concentrations testées	Souche bactérienne	Résistance des souches	Photos des résultats
<i>Solution 10<sup>-3</sup></i>	01	+++	
	02	+++	
	03	+++	
	04	+++	
	05	+++	
	06	+++	
	07	+++	
	08	+++	
	09	+++	
	10	+++	
	11	+++	
	12	+++	
	13	+++	
	14	+++	
	15	-	
	16	-	
	17	+++	
	18	+++	
	19	+++	
	20	+++	
	21	+++	
	22	+++	

## II-Résultats et discussions

Concentrations testées	Souche bactérienne	Résistance des souches	Photos des résultats
<i>Solution 10<sup>-4</sup></i>	01	+++	
	02	+++	
	03	+++	
	04	+++	
	05	+++	
	06	+++	
	07	+++	
	08	+++	
	09	+++	
	10	+++	
	11	+++	
	12	+++	
	13	+++	
	14	+++	
	15	-	
	16	-	
	17	+++	
	18	+++	
	19	+++	
	20	+++	
	21	+++	
	22	+++	

## II-Résultats et discussions

Concentrations testées	Souche bactérienne	Résistance des souches	Photos des résultats
<i>Solution 10<sup>-5</sup></i>	01	+++	
	02	+++	
	03	+++	
	04	+++	
	05	+++	
	06	+++	
	07	+++	
	08	+++	
	09	+++	
	10	+++	
	11	+++	
	12	+++	
	13	+++	
	14	+++	
	15	-	
	16	-	
	17	+++	
	18	+++	
	19	+++	
	20	+++	
	21	+++	
	22	+++	

**1** : *E. Coli* / **2** : Streptocoque groupe D (*enterococcus*)/**3** : *Enterobacter sp*/**4** : *E. Coli*

**5** : *Klebsiella pneumoneae* (BLSE)/ **6** : *E. Coli*/ **7** : *K.pneumoneae*(BLSE)/ **8** : *E.Coli*

**9** : *Pseudomonas aeruginosa*/ **10** : *E.Coli*/ **11** : *E.Coli*(BLSE)/ **12** : *K.pneumoneae*(BLSE) /

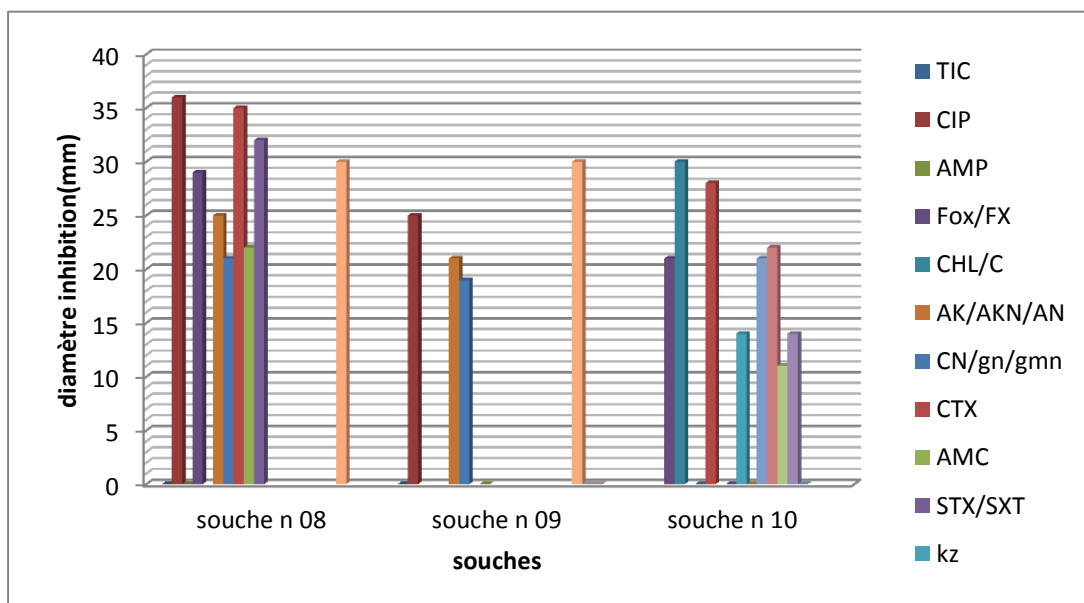
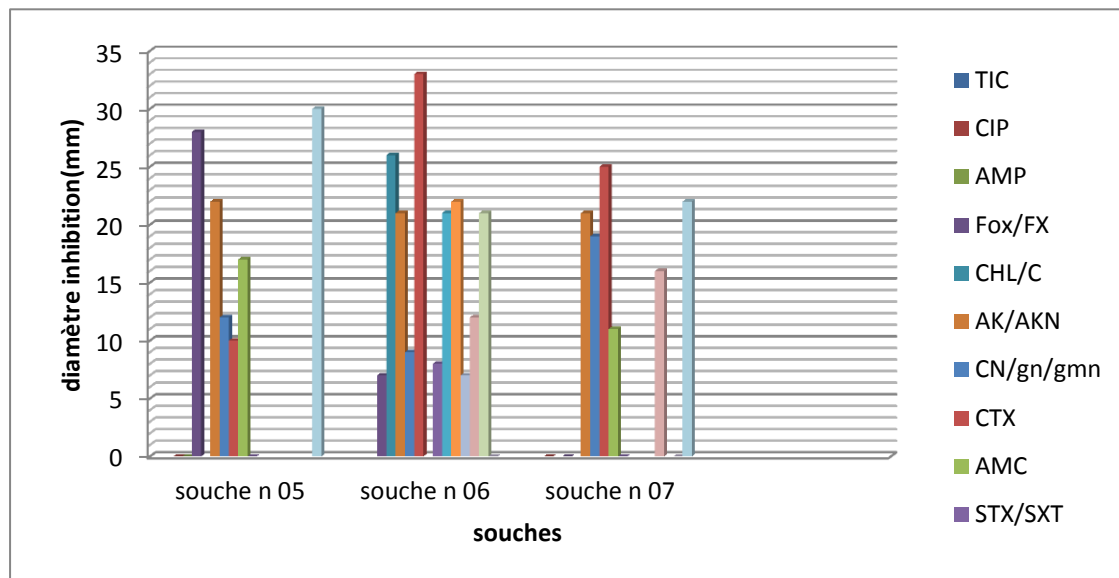
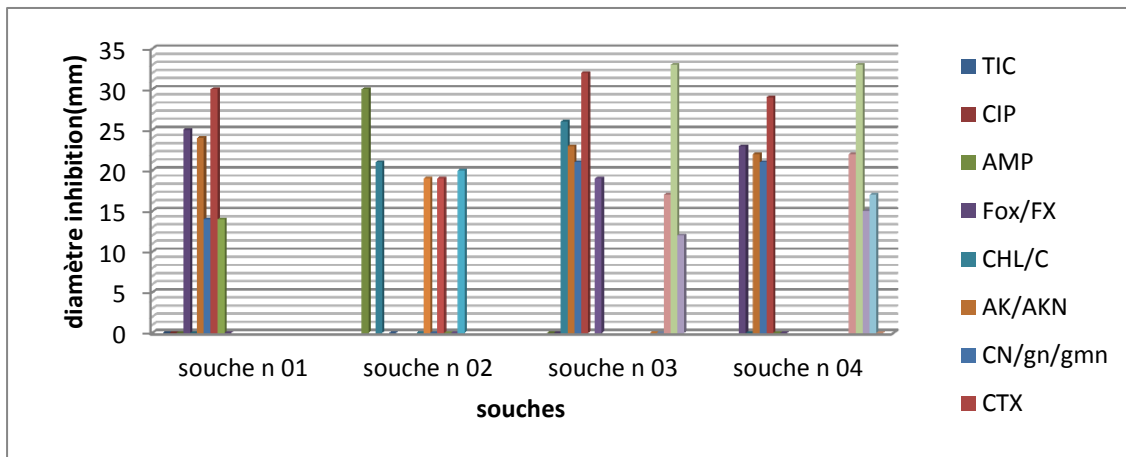
**13** : *E.Coli*/ **14** : *Enterobacter*/ **15** : *Entérobacter cloacae* / **16** : *Pseudomonas aeruginosa*/

**17** : *Proteus sp* / **18** : *E. Coli*(BLSE)/ **19** : *E. Coli*(BLSE)/ **20** : *E. Coli*/ **21** : *K. pneumoniae*/

**22** : *K.pneumoniae*(BLSE).

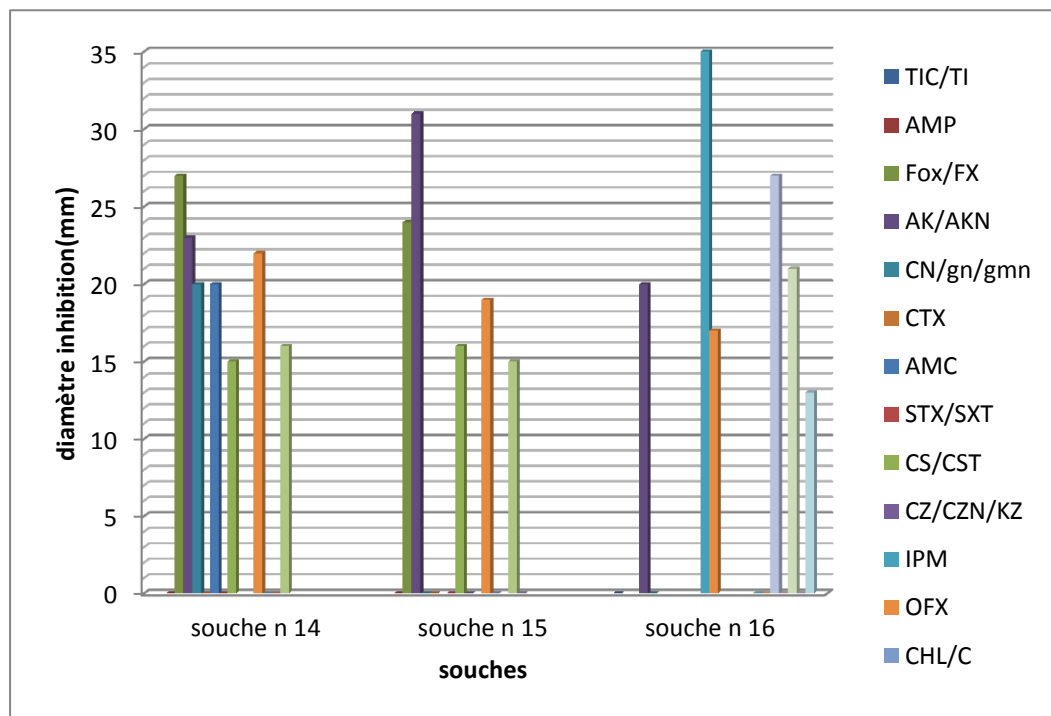
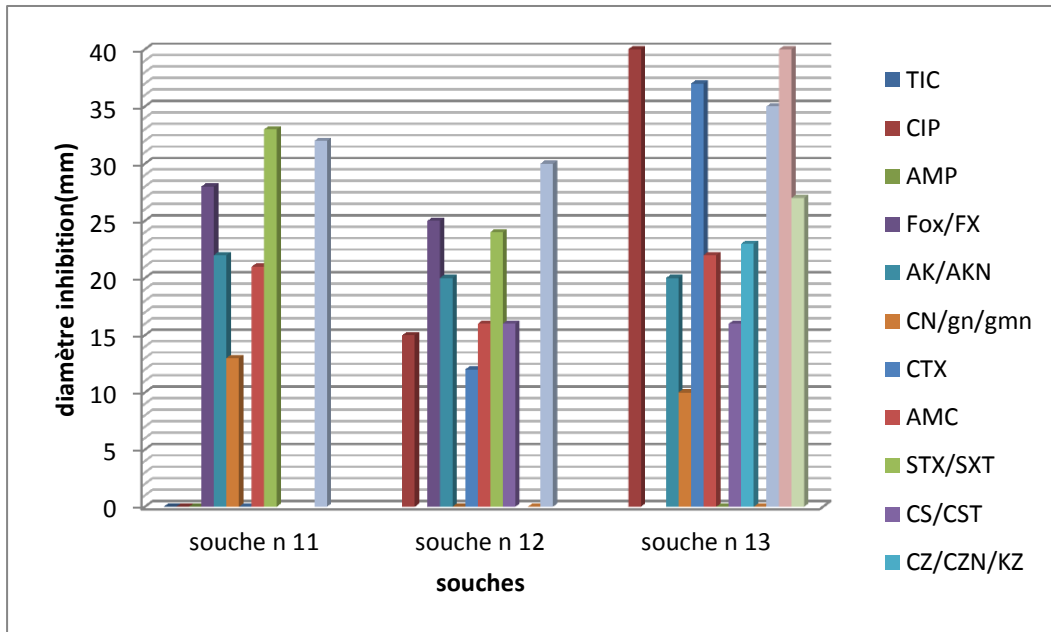
## II-Résultats et discussions

Les résultats de l'antibiogramme sont représentés dans les histogrammes de la figure 09 :

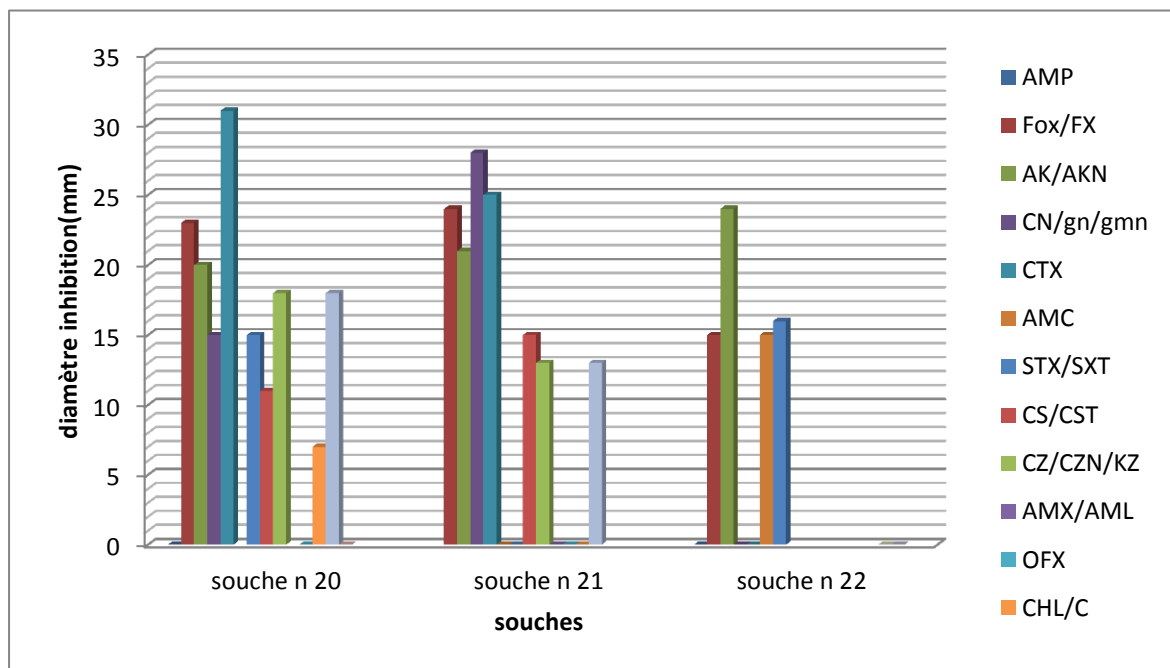
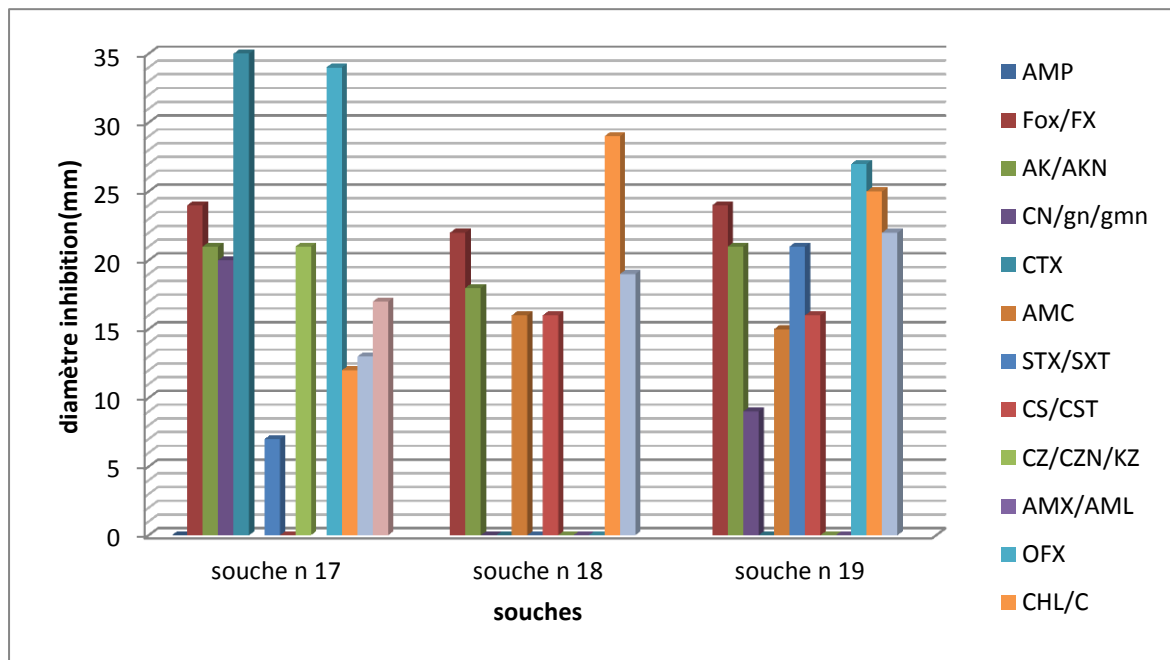




## II-Résultats et discussions



## II-Résultats et discussions



1 : *E. Coli* / 2 : Streptocoque groupe D (*enterococcus*)/3 : *Enterobacter sp*/4 : *E. Coli*/5 : *K. pneumoniae* (BLSE)/6 : *E. Coli*/7 : *K.pneumoneae*(BLSE)/8 : *E.Coli*/ 9 : *Pseudomonas aeruginosae*/10 : *E.Coli*/11 : *E.Coli*(BLSE)/12 : *K.pneumoneae*(BLSE) / 13 : *E.Coli*/14 : *Enterobacter*/15 : *Entérobacter cloacae*/16 : *Pseudomonas aeruginosa*/17 : *Proteus sp* /18 : *E. Coli*(BLSE)/19 : *E. Coli*(BLSE)/20 : *E. Coli*/21 : *K. pneumoniae*/22 : *K.pneumoniae*(BLSE).

Figure 09. Résultats de l'antibiogramme

### II.2. Discussion :

L'Examen Cytobactériologique des Urines et l'Examen Cytobactériologique des pus ont révélé 20,45 % de prélèvement positifs dont 65% sont des bactéries *E.coli*. Le taux de bactéries d'*E.coli* rencontré dans les services hospitaliers est similaire à celui trouvé par Boukadida et al. , 2002 dans les hôpitaux de Tunisie et de Maroc

*E.coli* domine nettement le profil général des bactéries responsables d'infections urinaires (Boukadida et al, 2002). Le comportement de cette bactérie, pathogène majeure à la fois à l'hôpital et en ville, vis-à-vis des antibiotiques reflète à la fois la pression de sélection hospitalière et communautaire des antibiotiques (Bean et al, 2006)

La fréquence des souches bactériennes rencontrée chez le sexe féminin est plus élevée avec 80%, par contre chez le sexe masculin, elle est de 20%. On peut expliquer ce résultat trouvé par la proximité entre l'anus et le méat urinaire (l'orifice externe de l'urètre) qui facilite grandement l'accès de l'urètre aux bactéries intestinales provenant du rectum (Seck, 2005).

En outre la longueur de l'urètre et les sécrétions prostatiques acides (au rôle antibactérien) expliquent en partie la rareté des infections chez l'homme jeune. En revanche Chez l'homme plus âgé, la diminution de ces sécrétions, l'augmentation du volume prostatique et surtout la mauvaise vidange vésicale liée à l'obstacle prostatique favorisent la survenue des infections génito-urinaires (Seck, 2005).

Par ailleurs les rendements moyens en huile essentielle (HE) trouvés ont été exprimés en millilitre par rapport à 100 g de végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Le rendement moyen en huile essentielle obtenue avec l'espèce *Artemisia herba alba* est de 0.63%. En effet, la teneur en HE obtenue récoltée le mois de février pour l'armoise blanche de la région de Bordj Bou Arreridj est plus élevée que celle rapportée pour *l'Artemisia arborescens* et *l'Artemisia judaica* qui est respectivement de 0,3 et 0,4 % (ml/100 g) (Abdelgaleil et al., 2007). Cependant, la teneur obtenue reste relativement faible par rapport à celle d'autres espèces d'*Artemisia*, telles que *l'Artemisia haussknechtii* (2,1 % [ml/100 g]) (Jalali et Sereshti., 2007) et *l'Artemisia sieberi* (1,7 % [ml/100g]) (Ghasemi et al., 2006). Cette différence en rendement entre les armoises peut être expliquée par la nature de l'espèce et l'effet du stade végétatif de la plante et les conditions édaphiques de la région.

Les bactéries multi résistantes sont de plus en plus présentes dans le monde médical. Auparavant, confinées au milieu hospitalier, elles se propagent aujourd'hui dans la communauté.

De nouveaux mécanismes de résistance émergent à ce jour, mettant en lumière des bactéries toto résistantes. Des associations entre antibiotiques sont utilisées couramment pour traiter Certaines infections bactériennes et l'utilisation toujours plus large de l'antibiothérapie nous confronte aujourd'hui à une Spirale infernale de la résistance bactérienne. Les limites de l'antibiothérapie vis-à-vis des bactéries multi résistantes nous incitent à chercher de nouvelles

## *II-Résultats et discussions*

---

possibilités pour lutter contre celles-ci. L'essor actuel de la thérapie par les substances d'origine naturelle offre de nouvelles perspectives thérapeutiques.

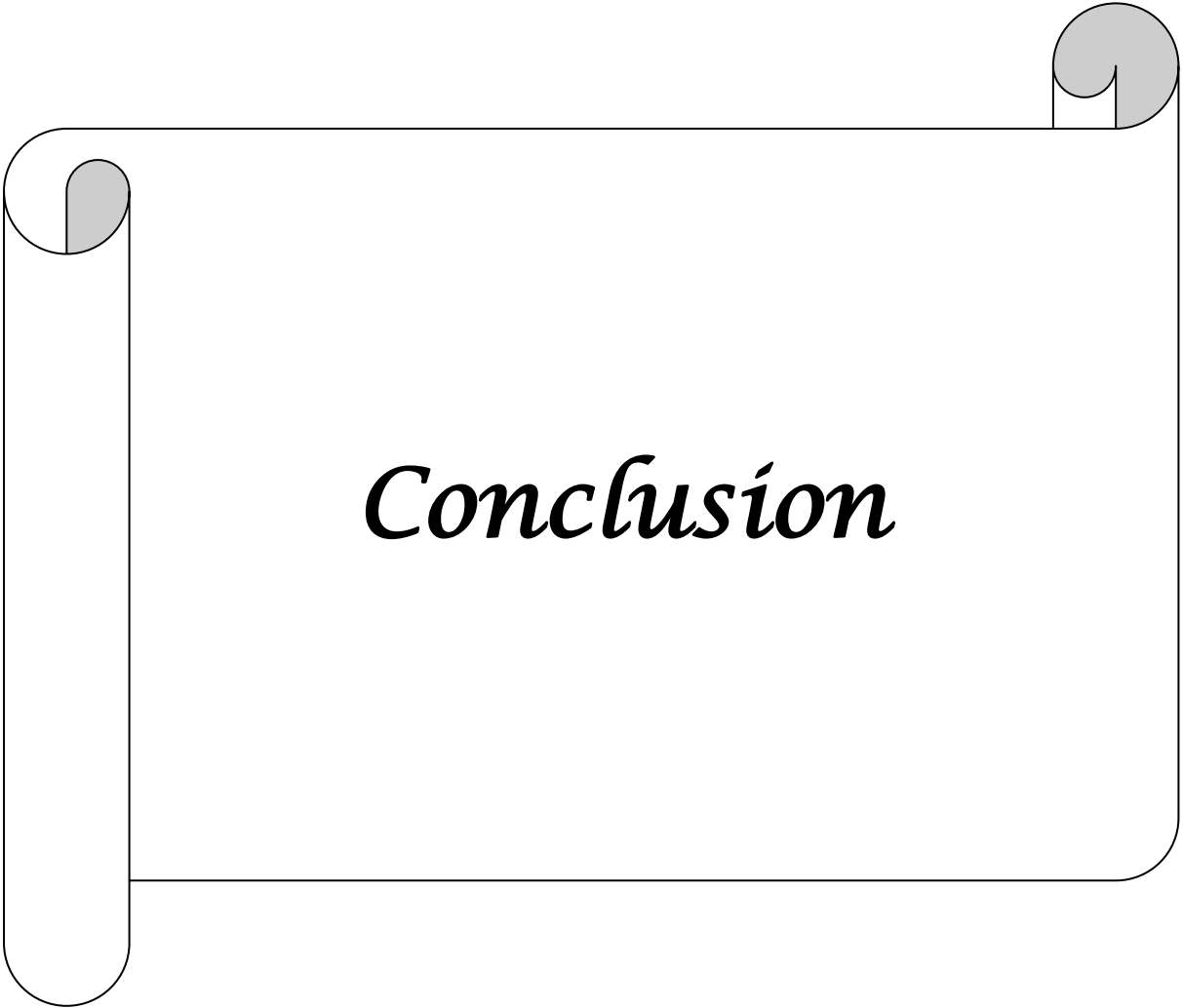
En effet, des études rapportant des travaux de recherche clinique mettent en évidence une activité antimicrobienne de Multiples huiles essentielles (**Lorenzi et al, 2009**)

Dans cette étude nos 22 souches bactériennes isolées : les entérobactéries, les *Staphylococcus à coagulasse négative* et les d'Enterococcus sp (origine ECBU) ayant acquis des mécanismes de résistance aux antibiotiques (notamment aux bêlactamines) montrent une sensibilité vis-à-vis de notre huile essentielle (SM). La résistance de la majorité de nos bactéries Gram- à l'encontre de notre huile essentielle n'est pas surprenante, elle est en relation avec la nature de leur membrane externe (imperméable à la plupart des agents biocides) (**Faucher et Avril, 2002**)

Par ailleurs, la *Pseudomonas aeruginosa*, et l'*Entérobacter cloacae* sont responsables de nombreuses infections nosocomiales, et elles présentent plus de 20 % de résistance aux carbapénèmes et à une gamme importante d'antibiotiques sont parmi les bacilles à Gram négatif présentant une sensibilité importante vis-à-vis de toute la gamme des dilutions d'huile essentielle ( $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-5}$ ).

L'activité antibactérienne des huiles de l'armoise blanche peut être expliquée par leurs richesses en composés oxygénés (chrysonthénone, camphre,  $\alpha$ -terpin- 7-al et trans- $\beta$ -terpinéol) (**Kordali al. ,2005**)

En outre des études récentes ont montrés que l'importante action antimicrobienne d'huile essentielle de la plante étudiée est en relation avec leurs fortes teneurs en  $\alpha$ -thuyone et en camphre. Ces composés phénoliques sont réputés à avoir une grande action antibactérienne et antifongique (**Salah Mahmoud et al ; 2005**). Cependant, certaines études ont trouvé que l'activité antimicrobienne des HE peut être supérieure à celle de leurs composés majoritaires testés séparément (**Lahlou., 2004**). Cette dominance d'activité des essences sur celle d'un composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourraient apporter les composants minoritaires à l'activité des HE. (**Franchomme ., 1981 ; Lahlou., 2004 et Kordali al. ,2005**)



*Conclusion*

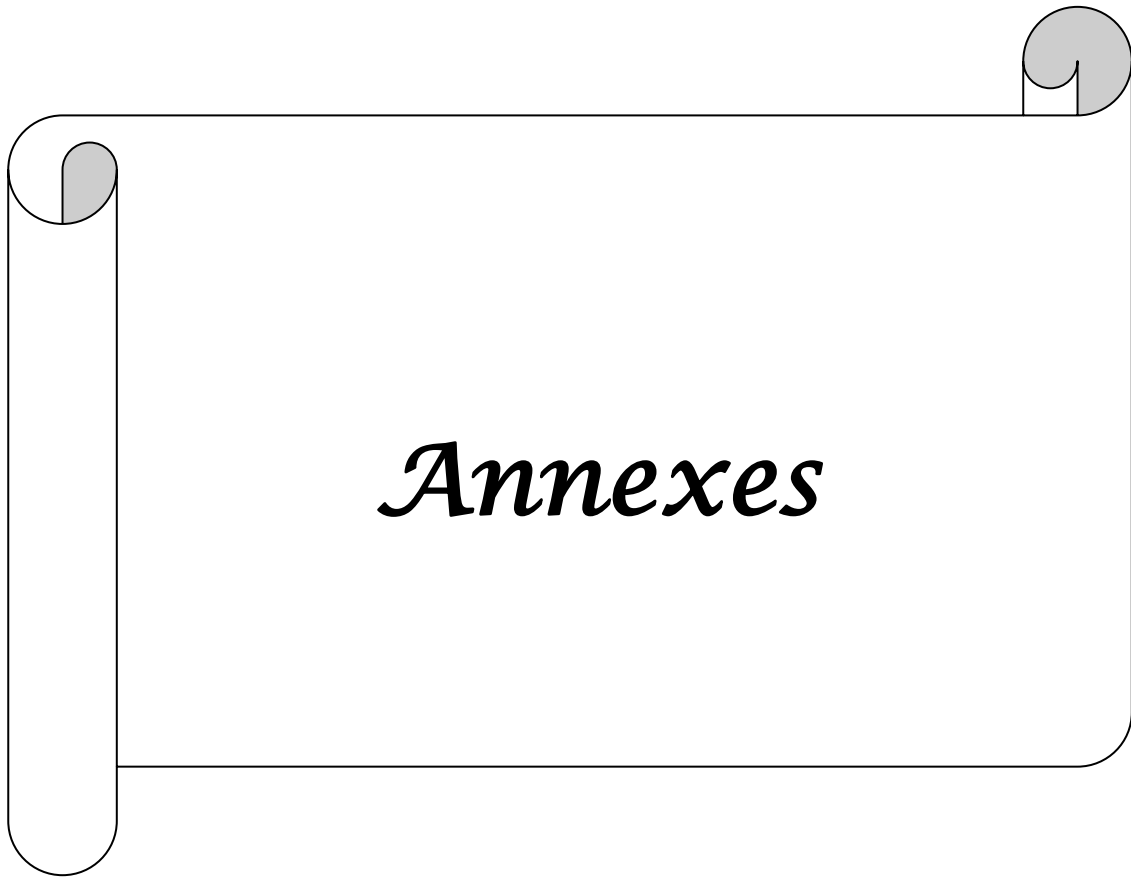
### Conclusion :

Face au problème soulevé depuis plusieurs années par la résistance des bactéries aux antibiotiques, l'une des alternatives à l'usage de ces médicaments anti-infectieux pourrait être celle des composés d'origine naturelle et en particulier les huiles essentielles. Connue de façon empirique depuis des siècles, la propriété antibactérienne de certaines molécules est mise à profit dans la thérapie anti infectieuse chez de nombreuses ethnies de part le monde. L'efficacité anti infectieuse de certaines huiles a en outre été scientifiquement démontrée in vitro.

Les résultats de notre étude antibactérienne des huiles essentielles extraites *d'Artemisia herba alba* tendent à prouver une action inhibitrice sur une population bactérienne représentant des groupes bactériens très variés provenant d'infections cliniques et dont les majorités c'est des bactéries multi résistantes. Aussi, cette étude laisse entrevoir une voie de recherche dans la lutte contre les bactéries multi résistantes.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests bactériens ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans les différents extraits en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de cette plante.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur l'activité bactérienne des extraits de cette plante.



*Annexes*

## Annexe I : Matériel non biologique

- **Verrerie et appareils :**

- Agitateur
- Bec bunsen
- Boîtes de pétri
- Fioles
- Bécher
- Ecouillons
- Lames et lamelles
- Pied à coulisse
- Pince métallique
- Pipettes pasteur
- Pipettes graduées
- Poire
- Portoir à tube
- Tubes à hémolyse
- Tubes à vis stérile
- Spatules métalliques
  
- Gants.
  
- Papier aluminium.

- **Appareillage:**

- Etuve (37C°)
- Microscope optique
- Réfrigérateur
- Sécheuse
- autoclave
- Etuve de stérilisation 190C°
- Balance de précision.
- Plaque chauffante.



- **Solution, réactifs et colorants :**
  - Eau distillée
  - Eau physiologique stérile à 9%
  - Eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)
  - Alcool à 95%
  - Huile de vaseline stérile
  - Réactifs de kovacs
  - Réactifs de voges proskower (VPI et VP II)
  - Réactifs de rouge de méthyle
  - Réactifs de GREISS (nitrate I et II)
  - Réactifs de tryptophane désaminase (TDA)
  - Bleu de méthyle
  - Violet de Gentiane
  - Lugol
  - Fuchsine
- **Disque imprégnés :**
  - Disques d'antibiotiques
- **Milieux de cultures :**
  - gélose nutritive(GN)
  - milieu gélose Muller-Hinton

### Compositions des milieux de cultures

- **Gélose nutritive :**

Peptone .....	10g
Extrait de viande.....	03g
Extrait de levure.....	03g
Chlorure de sodium.....	05g
Agar.....	18g
pH=7.5	

- **Milieu Mueller-Hinton :**

Extrait de viande.....	03g
Hydrolysate acide de caséine .....	7.5g
Amidon.....	05g
Agar .....	16g
pH=7.4	

## Annexes

### Annexe II

#### Tableau n° 09 : lecture de la galerie Api 20 E

-Suspension d'opacité de 0.5 mac Ferland (culture pure de 18-24h)

-Ensemencer sans faire de bulle d'air

-Mettre de l'huile de vaseline stérile

-Remplir la totalité de la cupule.

-Refermer la boîte et la placer à 35C° pendant 24 heures

tests	Réaction négative	Réaction positive
ONPG	incolore	jaune
ADH, LDC, ODC	Jaune	Rouge orangé
CIT	Jaune/vert pale	Bleu vert/bleu
H <sub>2</sub> S	incolore	Dépôt noire/fin liseré
URE	Jaune	Jaune/rouge orangé
TDA+ réactive TDA	jaune	Marron/rougeâtre
IND+KOVACS	Incolore Bleu pâle/jaune	Anneau rose
VP VPI VPII	Incolore	Rose /rouge
GEL	Non diffusion	diffusion
glucide	Bleu/bleu vert	jaune

Source : (OMS; 2003)

## Annexes

### Annexe III :

**Tableau n°10:** Identification et détermination des caractères biochimiques des Bactéries Gram- (**Krieg et al., 1984 et Holt et al., 1994**).

Bactéries Gram-	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>E.cloacae</i>	<i>S.sonnei</i>	<i>S.enteridis.</i>	<i>P.aeruginosa</i>
<b>Caractères cultureux</b> <b>Sur gélose nutritive</b>	Colonies ; bombées, moyennes, lisses et transparentes, 2 à 3 mm de diamètre	Colonies, rondes muqueuses, bombées, , lisses et transparentes, 3 à 4mm de diamètre	Colonies rondes légèrement irisées ou plates, bombées et muqueuses	Colonies lisses, à bords réguliers, 3 à 4 mm de long et 0.6 um de large	Colonies assez grandes plus au moins opaques, de 1.5 à 3 mm de diamètre	Colonies moyennes, légèrement bombées opaques, brillantes et pigmentées en vert de 1.5 à 3 um de long et de 0.5 à 0.8 um de large
<b>Examen microscopique</b>	- Cocobacilles droits isolés ou en amas - Gram-	- Gros bacilles, droits entourées d'une capsule - Gram-	- Bacilles - Gram-	- Petites bacilles - Gram-	- Bacilles - Gram-	- Bacilles droits - Gram-
<b>Respiration</b>	- Aerobie-anaérobie facultatif	- Aérobie-anaérobie Facultatif	- Aérobie-anaérobie facultatif	- Aérobie-anaérobie facultatif	-Aérobie-anaérobie facultatif	- Aérobie strict
<b>Oxydase</b>	-	-	-	-	-	+
<b>Catalase</b>	+	+	+	+	+	+
<b>ONPG</b>	+	+	+	+	-	-
<b>ADH</b>	-	-	+	+	+	+
<b>LDC</b>	+	+	-	-	+	-
<b>ODC</b>	+	-	+	+	+	-
<b>Indole</b>	+	-	-	-	-	-
<b>Citrate</b>	-	+	+	-	+	+
<b>Urée</b>	-	+	-	-	-	-
<b>H2S</b>	-	-	-	-	+	-
<b>TDA</b>	-	-	-	-	-	-
<b>VP</b>	-	+	+	-	-	-
<b>Nitrates</b>	+	+	+	+	+	+

## Annexes

---

<b>Glucose</b>		+	+	+	-	+	-
<b>Saccharose</b>		+	+	+	-	-	-
<b>Lactose</b>		+	+	+	-	-	-
<b>MEVAG</b>	<b>Aérobie</b>	+	+	+	+	+	+
	<b>Anaérobie</b>	+	+	+	+	+	-
<b>Mannitol</b>		+	+	+	+	-	+
<b>Mobilité</b>		+	-	+	-	+	+
<b>Gaz</b>		+	+	+	-	+	-
<b>King A et King B</b>							+
<b>Croissance à -4°C</b>							-
<b>Croissance à 41°C</b>							+

## Annexes

**Tableau n°11 : Identification et détermination des caractères biochimiques des Bactéries Gram+ (Krieg *et al.*, 1984 et Holt *et al.* ; 1994).**

Bactéries Gram+	<i>B.cereus</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.faecium</i>
<b>Caractères culturaux sur gélose nutritive</b>	Colonies rondes à contour irrégulier plat opaque, surface rugueuse et de couleur blanc jaunâtre de 3 à 5um de long sur 1 à 1.2 um de large	Colonies rondes à contour irrégulier plat opaque,	Colonies opaques arrondies bombées brillantes et à teinte blanche en jaune doré de 1 à 2 um de diamètre	Colonies petites lisses et opaques
<b>Caractérisation de la spore</b>	Elliptique, centrale et non déformante	Ovale centrale et non déformant		
<b>Examen microscopique</b>	- Bâtonnet droit (gros bacilles isolés ou en groupes sous forme de chaînettes ) - Gram+	- Bâtonnet droit (gros bacilles isolés ou en groupes sous forme de chaînettes ) - Gram+	- Coccis regroupés en diplocoques ou en amas (grappes de raisins) - Gram+	- Coccis libres en paires ou en chaînettes - Gram+
<b>Respiration</b>	- Aerobie-anaérobie facultatif	- Aérobie strict	- Aéro-anaérobie facultatif	- Aérobie-anaérobie Facultatif
<b>Oxydase</b>	-	-	-	-
<b>Catalase</b>	+	+	+	-
<b>ONPG</b>	-	NF	NF	NF
<b>ADH</b>	+	NF	NF	NF
<b>LDC</b>	-	NF	NF	NF
<b>ODC</b>	-	NF	NF	NF
<b>Indole</b>	-	-	-	NF
<b>Citrate</b>	-	-	NF	NF
<b>Urée</b>	-	-	+	NF
<b>H2S</b>	-	NF	NF	NF
<b>TDA</b>	NF	NF	NF	NF
<b>VP</b>	+	+	NF	NF
<b>Nitrates</b>	+	+	NF	NF
<b>Glucose</b>	+	+	+	NF
<b>Saccharose</b>	+		+	+

## Annexes

Lactose	NF	NF	+	NF
coagulase	NF	NF	+	+
MEVAG	Aérobie	+	+	+
	Anaérobie	+	-	+
Mannitol	-	+	+	NF
Mobilité	+	+	-	NF
Xylose	-	+	-	NF
Hydrolysed'amidon	+	+		NF
Lécitinase	-	+		NF
Gélatinase	+	+		NF
Hémolyse sur gélose nutritive	NF	NF	Bêta	Bêta

**Tableau 12: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Pseudomonas aeruginosa* (standardisation de l'antibiogramme A l'échelle nationale ,2011)**

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
<b>Ticarcilline</b>	<b>75 µg</b>	<b>14</b>	<b>---</b>	<b>15</b>
<b>Ticarcilline +ac.clavulanique</b>	<b>75/10µg</b>	<b>14</b>	<b>---</b>	<b>15</b>
<b>Pipéracilline</b>	<b>100 µg</b>	<b>17</b>	<b>---</b>	<b>18</b>
<b>Ceftazidime</b>	<b>30 µg</b>	<b>14</b>	<b>15 – 17</b>	<b>18</b>
<b>Aztréonam</b>	<b>30 µg</b>	<b>15</b>	<b>16 – 21</b>	<b>22</b>
<b>Imipénème</b>	<b>10 µg</b>	<b>13</b>	<b>14 – 15</b>	<b>16</b>
<b>Amikacine</b>	<b>30 µg</b>	<b>14</b>	<b>15 – 16</b>	<b>17</b>
<b>Gentamicine</b>	<b>10 µg</b>	<b>12</b>	<b>13 – 14</b>	<b>15</b>
<b>Nétilmicine</b>	<b>30 µg</b>	<b>12</b>	<b>13 – 14</b>	<b>15</b>
<b>Tobramycine</b>	<b>10 µg</b>	<b>12</b>	<b>13 - 14</b>	<b>15</b>
<b>Ciprofloxacine</b>	<b>5µg</b>	<b>15</b>	<b>16 - 20</b>	<b>21</b>
<b>Lévofloxacine</b>	<b>5µg</b>	<b>13</b>	<b>14 - 16</b>	<b>17</b>
<b>Fosfomicine</b>	<b>50µg + 50µg G6P</b>	<b>&lt;14</b>	<b>-----</b>	<b>≥ 14</b>
<b>Rifampicine</b>	<b>30 µg</b>	<b>&lt;14</b>	<b>14 - 18</b>	<b>≥ 19</b>
<b>Colistine</b>	<b>10µg</b>	<b>10</b>	<b>-----</b>	<b>11</b>

**Tableau 13: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour Entérobactéries (standardisation de l'antibiogramme A l'échelle nationale ,2011)**

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			Commentaires
		R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Amoxicilline+Ac.clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	
Céfalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	
Ceftriaxone	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	
Imipénème/Meropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	
Ertapénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	
Colistine	-----	-----	-----	-----	Ne tester à l'antibiogramme que pour un but diagnostique. (résistance si culture au contact du disque ou présence d'une cocarde).
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	Indiqué uniquement pour les souches d'E.coli isolées d'infections urinaires. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose 6-phosphate
Triméthoprim+Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	

**Tableau 14: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Enterococcus* spp. (Standardisation de l'antibiogramme A l'échelle nationale ,2011)**

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			Commentaires
		R	I	S	
Ampicilline	10µg	16	---	17	Interprétation valable pour amoxicilline
Tétracycline	30µg	14	15 – 18	19	Interprétation valable pour doxycycline
Vancomycine	30µg	14	15 – 16	17	
Teicoplanine	30µg	10	11 – 13	14	
Gentamicine Haut niveau	120µg	6	7 – 9	10	
Streptomycine Haut niveau	300µg	6	7 – 9	10	
Lévoﬂoxacine	5µg	13	14 – 16	17	
Erythromycine	15µg	13	14 – 22	23	
Furanes	300µg	14	15 – 16	17	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Rifampicine	5µg	≤ 16	17 – 19	≥ 20	
Fosfomycine	200µg	12	13 – 15	16	Recommandé pour les souches d' <i>E.faecalis</i> isolées du tractus urinaire
Quinupristine-Dalfopristine	15µg	15	16 – 18	19	Spectre limité à <i>E.faecium</i> vancomycine résistant.
Chloramphénicol	30µg	12	13 – 17	18	Interprétation non valable pour les souches urinaires. Interprétation valable pour thiamphénicol.



Annexe IV : Classification des antibiotiques

IV.1. Bêta-Lactamines :

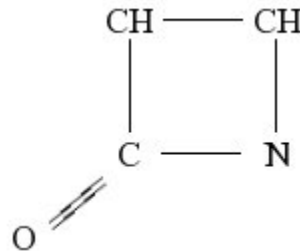


Figure 10. Structure Noyau de  $\beta$  Lactamine (JOFFIN et GUY, 2001).

IV.1.1. Pénicillines :

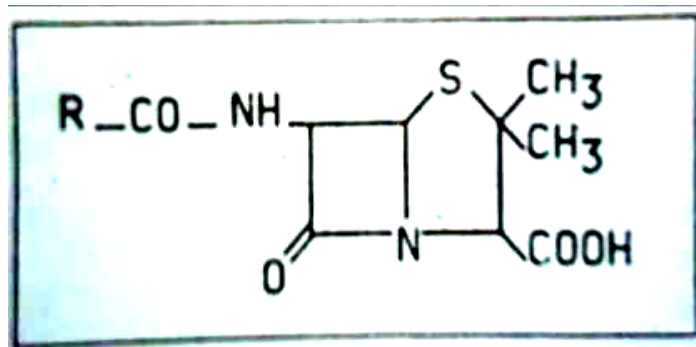


Figure 11 : Structure de base de pénicilline (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

IV.1.2. Céphalosporines :

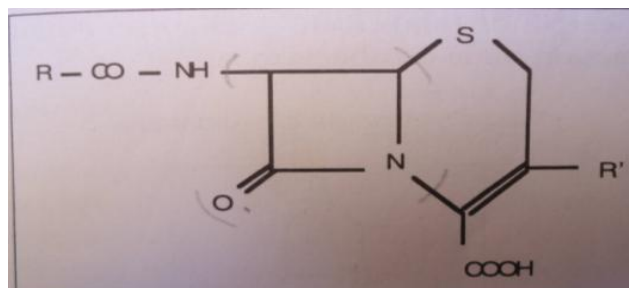


Figure 12. Structure de base des céphalosporines (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

IV.1.3. Autres Bêta- lactamines :

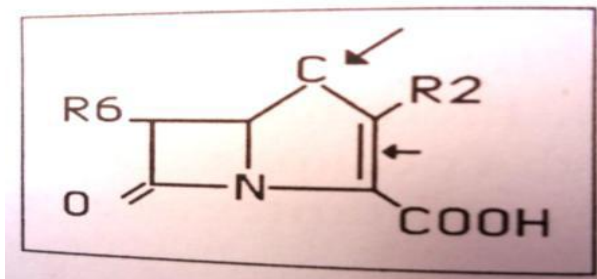


Figure 13. Structure de noyau carbapèmes (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

IV.2. Aminoglycosides :

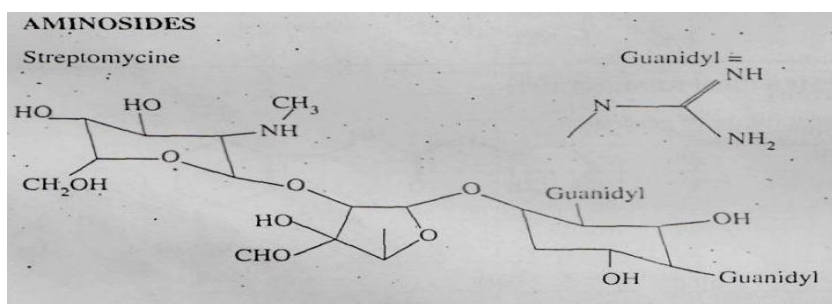


Figure 14. Structure des aminosides (JOFFIN et GUY, 2001).

IV.3. Tétracyclines :

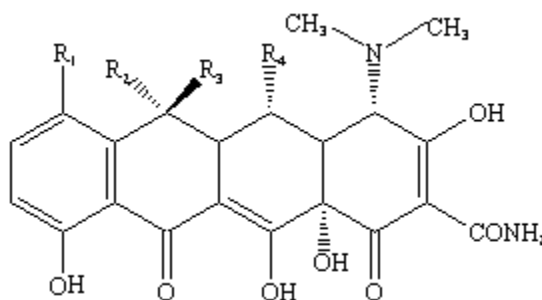
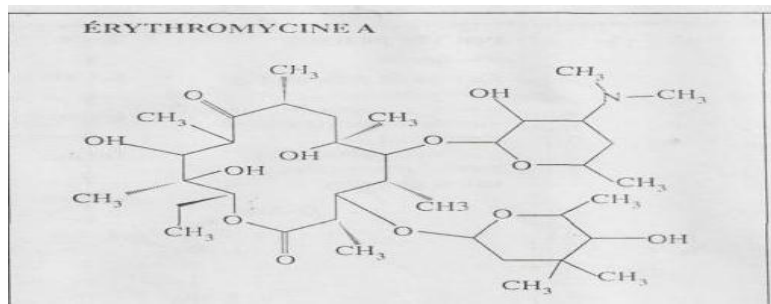


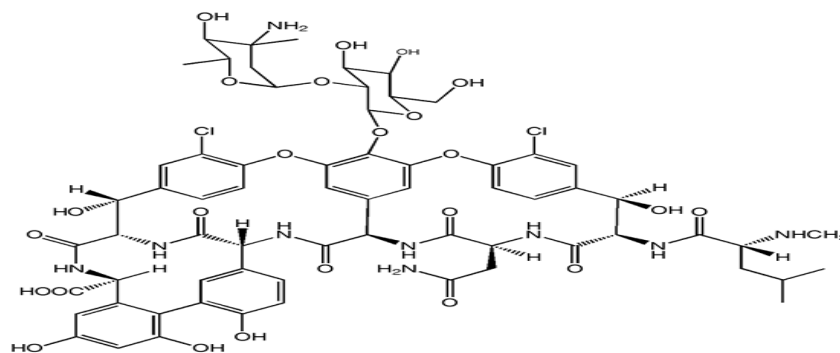
Figure 15. Structure des tétracyclines (JOFFIN et GUY, 2001).

**IV.4. Macrolides :**



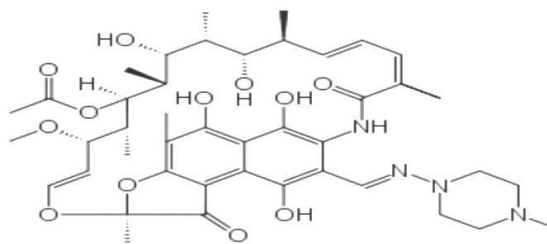
**Figure 16.** Structure des macrolides (JOFFIN et GUY, 2001).

**IV.5. Glycopeptides :**



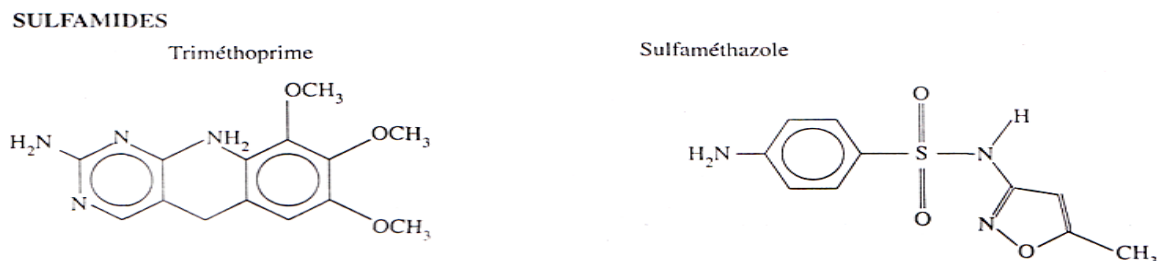
**Figure 17.** Structure des glycopeptides (JOFFIN et GUY, 2001).

**IV.5. Rifamycines :**



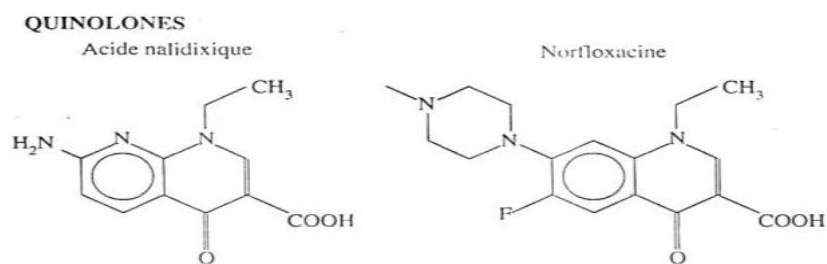
**Figure 18.** Structure des rifamycines (JOFFIN et GUY, 2001).

**IV.6. Sulfamides :**



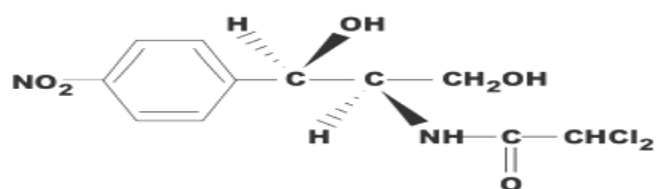
**Figure 19.** Structure des sulfamides (JOFFIN et GUY, 2001).

#### IV.7 Quinolones :



**Figure 20.** Structure des quinolones (JOFFIN et GUY, 2001).

#### IV.8 Phénicols :



**Figure 21.** Structure de phénicols (JOFFIN et GUY, 2001).

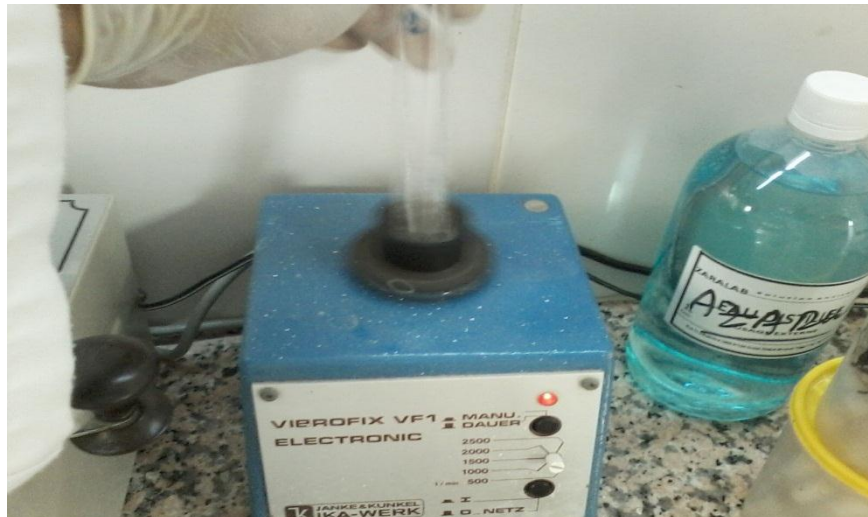
**Annexe V :**



**Figure 22.** Pesé de l'Armoise blanche broyé

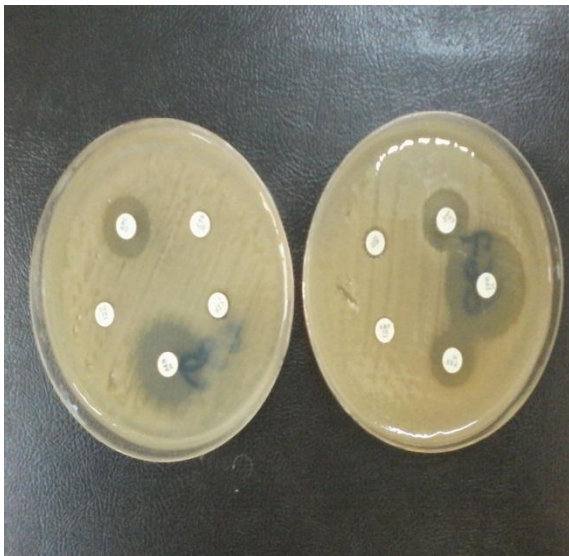


**Figure 23.** Densitomètre



**Figure 24.** Agitateur vortex

**Figures 25.** Résultats de quelques antibiogrammes



**Photo1 :** Antibiogramme de *K.pneumoniae* BLSE<sup>1</sup>



**Photo2 :** Antibiogramme d'*Entérobacter cloacae*<sup>2</sup>



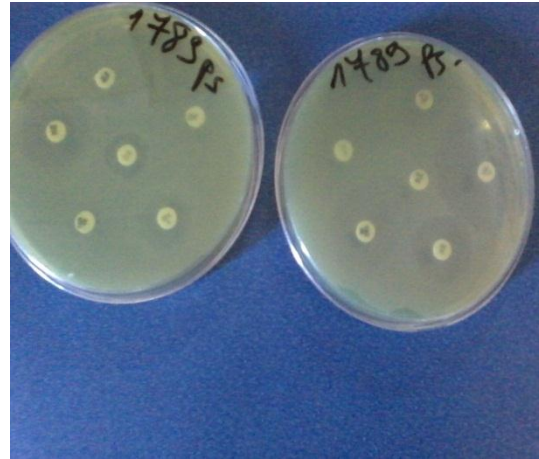
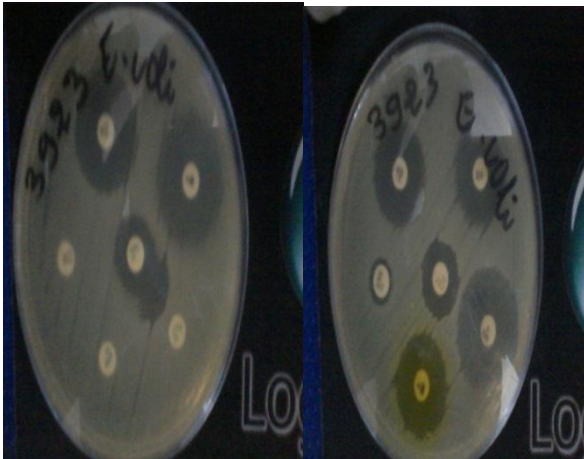
**Photo3** : Antibiogramme de *K.pneumoniae* BLSE<sup>3</sup> **Photo4** : Antibiogramme d'*E. Coli*<sup>4</sup>



**Photo5** : Antibiogramme d'*E. Coli* BLSE<sup>5</sup>

**Photo6** Antibiogramme de *K.pneumonia*<sup>6</sup>

## Annexes

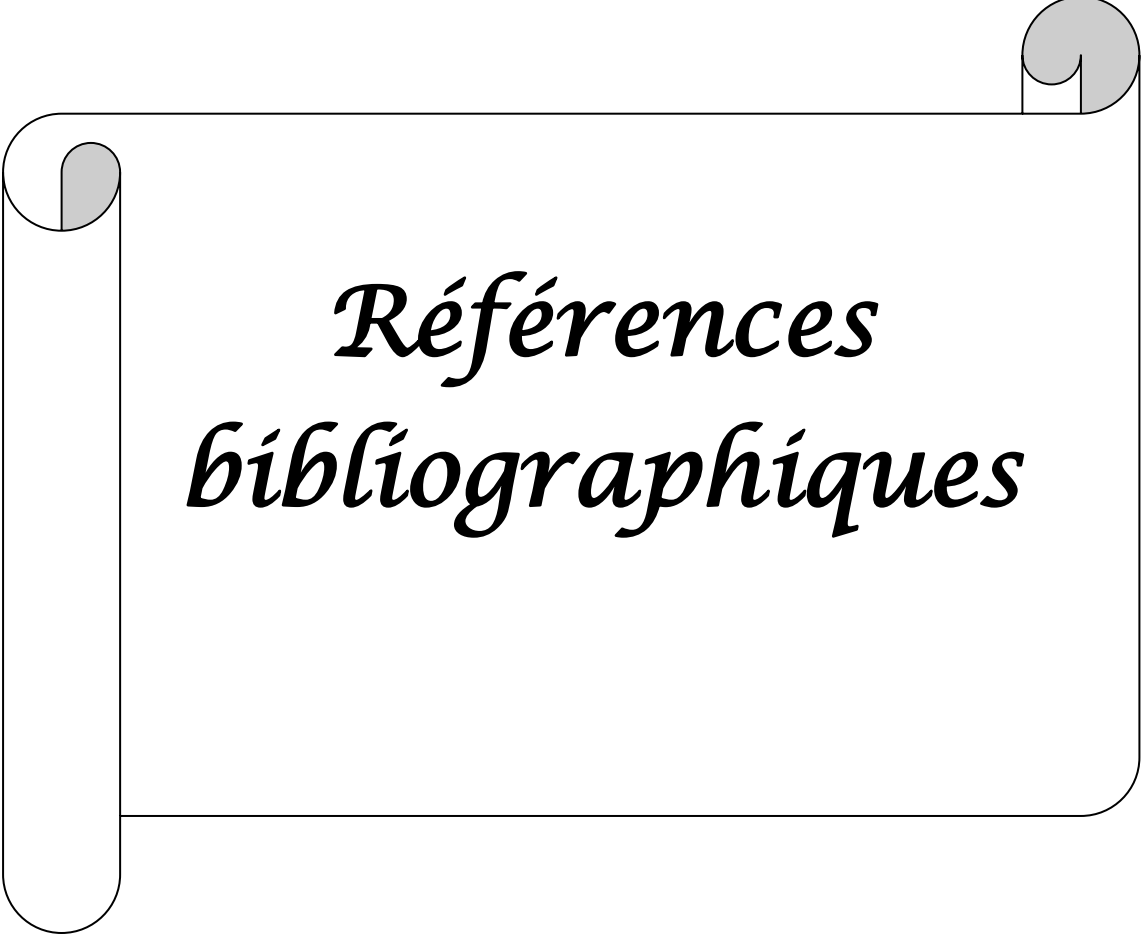


**Photo7** : AntibioGramme d'*E. Coli* BLSE<sup>7</sup>

**Photo8** : AntibioGramme de *P. aeruginosa*<sup>8</sup>

**1** : souche N°22 **2** : souche N°15 **3** : souche N°7 **4** : souche N°4 **5** : souche N°18 **6** : souche N°21 **7** : souche N°19 **8** : souche N°16





*Références  
bibliographiques*

# Références Bibliographiques

📖 **Abdelgaleil SAM, Abbassy MA, Belal AH, et al. (2007)** Bioactivity of two major constituents isolated from the essential oil of *Artemisia judaica* L. *Bioresour Technol* 99(13): 5947–50

📖 **AFNOR, (2000)**. Les huiles essentielles. Tome 2. Vol 2. Paris : tour Europe. 663p.

📖 **Amana, E. K., (2007)**. Thèse de doctorat " Les anacardiaceae du Togo : Etudes botaniques, écologiques et propriétés antifongiques", Université de Lome.

📖 **Anonyme** : Etude cytobactériologique du pus [en ligne] sur : [Bacterioweb.univ-fcomte.fr](http://Bacterioweb.univ-fcomte.fr).

📖 **Arock M. (Paris), K. Chevet (Paris), R. Couderc (Paris), A. Del Corso (Paris), V. Ducros (Grenoble), R. Garnotel (Reims), I. Gustin (Nancy), P. Gillery (Reims), N. Kapel (Paris), L. Kramer (Paris), A. Legrand (Paris), G. Le Moël (Paris), C. Morin (Calais), N. Queyrel (Versailles), J.-C. Renversez (Grenoble), N. Schneider (Reims), P. Théron (Versailles), H. Tronel (Nancy), I. Villena (Reims), J.-P. Zarski (Grenoble), (2007)** . Le guide des examens biologiques le Quotidien du Pharmacien. Pp68

📖 **Atta-Ur, R.; Choudhary, M.I., (2001)**. Bioassay Techniques for Drug Development, Ed. Taylor & Francis, London.

📖 **BARJON, R; BERNAUD, J-J; CANAD, B ; FOURCAD, J et GUITER , (1991)** . Néphrologie Edition : Ellipes, : pp : 512-524.

📖 **Bean DC, Krahe D, Wareham DW**. Antimicrobial resistance in community and nosocomial *Escherichia coli* urinary tract isolates. London 2005–2006.

📖 **Bellakhdar, H., (1997)** Pharmacopée marocaine traditionnelle, Ed. IBIS Press, Paris.

📖 **Bendahou, M.; Muselli, A; Gringnon. Grignon- Dubois, M.; Benyoucef, M.; Desjobert, J. M.; Bernardini, A.F.; Costa, J., (2008)** . *Food chemistry* , 106, 132-139.

📖 **Bocevska, M.; Sovova, H., (2007)**. *The journal of supercritical fluids*, 40, 360-367.

📖 **Boukadida J, Boukadida N, et Elraii S.** Profil et sensibilité aux antibiotiques de 2063 bactéries uropathogènes isolées dans le centre de la Tunisie. *Bull Soc Pathol Exot* 2002;95(1):8–10.

📖 **Brada, M.; Bezzina, M.; Marlier, M.; Carlier, A.; Lognay, G., (2007).** *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 11(1), 3-7.

📖 **Bruneton J, (1999).** Pharmognosie, phytochimie, plantes médicinales. Edition Technique et documentation, 3<sup>ème</sup> édition Lavoisier, Paris .1120p.

📖 **Chabasse, D.; Guiguen, C.I.; Contet-Audonneau, N., (1999).** Mycologie médicale, 3.Ed. Masson, collection abrégés.

📖 **Chen, C.N; Weng ,M.S; Wu, C.L; et Lin J-K., (2004) .**Comparison of Radical Scavenging Activity, Cytotoxic Effects and Apoptosis Induction in Human Melanoma Cells by Taiwanese Propolis from Different Sources. *eCAM*. 1(2), 175-185.

📖 **Delaveau P. ,( 1982 ) .**Histoire et renouveau des plantes médicinales Paris Albin Michel P 348.

📖 **Duraffourd, C.; Lapraz, J.C., (2002) .**Traité de phytothérapie clinique, 3. Ed. Masson, Paris.

📖 **Eyouen, A.; Alouf, J.; Montagnier, L., (1998).** Traité de microbiologie clinique, Ed. Piccin, Padou, Italie.

📖 **Falmini, G.; Tebano, M.; Ciano.P. L.; Ceccarini, L.; Ricci, S. A., Longo, I., (2007).***Journal of Chromatography A* , , 1143, 36-40.

📖 **Fauchere, L. ; et Avril, J.,(2002).**Microbiologie général et médicale. Edition ellipses Paris. P 141-319.

📖 **Felice ,S. ; Francesco, N.; Nelly ,A.A.; Maurezio, B. & Werner, H., (2004).**Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea falcata* L. *Flav. Fragr. J.*, 20 (3), 291 – 294.

📖 **Franchomme P (1981)** L'aromatologie à visée anti-infectieuse. *Phytothérapie* 1 & 2: 25–45

📖 **Fraser ,S. L., Arnett ,M. et Sinave ,C.P., (2010).** *Enterobacter* Infections. *Medicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Contributor Information and Disclosures.*

📖 **Gaspar, F.; Santos, S.; King, M.B., (2000) .***Ind. Eng. Chem. Res.* , 39(12), 4603-4608.

- 📖 **Gharabi ,Z.; Sand, R.L., (2008).** *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa : 49 - 49.
- 📖 **Ghasemi E, Yamini Y, Bahramifar N, et al. (2006)** Comparative analysis of the oil and supercritical CO2 extract of *Artemisia sieberi*. *J Food Eng* 79(1): 306–11
- 📖 **Goubau ,P. et Pellegrims ,E., (2000).** Repères en microbiologie. Éd 3eme.
- 📖 **Haddouchi, F.; Benmansour, A., (2008).** Les technologies de laboratoire, 8, 20-27.
- 📖 **Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T., 1994.** Bergy's Manual of determination Bacteriology, *Ninth Edition*: 836.
- 📖 **Jalali HM, Sereshti H (2007)** Determination of essential oil components of *Artemisia haussknechtii* Boiss. Using simultaneous hydrodistillation- static headspace liquid phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1160(1 & 2): 81–9
- 📖 **Joffin, J-N;Guy, L.,(2001).** Microbiologie technique.3èmeEd.Centre régional de documentation pédologique d'aquitaine. P312.
- 📖 **Kato ,T.; Lijima ,H.; Ishihara ,K.; Kanek ,T.; Hirai, K.; Naito ,Y. & Okuda, K. ,(1990).**Antibacterial effect of listerine on oral bacteria. *Bull. Tokyo. Dent. Coll.*. 31(4) : 301-307.
- 📖 **Khadija Rhayour ,(2002)** . Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences Dhar Mehraz-Fès- 19-21.
- 📖 **Khebri Souad, (2011)** .Etude chimique et biologique des huiles essentielles de trois *artemisia* universite el-hadj lakhdar batna P25.
- 📖 **Kordali S, Cakir A, Mavi A, et al. (2005b)** Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species. *J Agric Food Chem* 53(5): 1408–16.
- 📖 **Krieg N.R., Holt J.G., 1984.** Bergy's Manual systematic Bactériology. *Édition Barbara.Tansil ; 1*: 941.
- 📖 **Kundan ,S. and Anupam ,S. (2010).** The Genus *Artemisia*: A Comprehensive Review. *J. Pharm. Biol.*pp:1-9.

📖 **Lahlou M (2004)** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother Res* 18: 435–48

📖 **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.

📖 **Le Floc'h ,E. ,(1983)**. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Editions Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique.

📖 **Lechere, H;Dizard;Husson, MO;Wattre, P;Jaubczok, E.,(1983)**. Microbiologie générale. Ed.Doin éditeurs.Paris.P369.

📖 **Lehraoua et Souid, (2009)**. Fréquence et antibiorésistance des bactéries fréquemment isolées au niveau de laboratoire d'analyse bactériologiques à l'hôpital (Mohamed Boudiaf). Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'étude supérieure en biologie, option microbiologie, université d'Ouargla.

📖 **Lorenzi V, Muselli A, Bernardini AF, Berti L ,Pagès JM, Amaral L, et al.** Geraniol restores antibiotic activities against multidrug resistant isolates from Gram negative species . *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53: 2209–11.

📖 **Malecky ,M. ; (2008)** .Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins ; Thèse de Doctorat de l'Institut des Sciences et Industries de Vivant et de l'environnement (Agro. Paris. Tech), INRA ; p: 27-35.

📖 **Marrif, H. I.; Ali, B.H.; Hassan, K.M., (1995) (a)** *Journal of Ethnopharmacology*, , 49, 51-55.

📖 **Marrif, H.I.; Ali, B.H.; Hassan, KM., (1995) (b)** *J of Ethnopharmacol.*, 49, 51-55.

📖 **Méric de Bellefon, L.; Legrand, J.-C.; Codden, T.; Carlier, E.; Vanhaeverbeek, M., (2007)**. *Rev. Méd Brux.*, , 28, 460-463.

📖 **Meyrie ,A .,(2003)**. Infection urinaire, ce qui a changé; pp:1793-1787.

📖 **Mirjalili, M.H. ;Tabatabaei ,S.M.F. ; Hadian ,J. ;Nejad ,S.E.,and Sonboli, A. ,(2007)**. Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* from Iran. *J. Essent. Oil Res.* 19: 326–329.

📖 **Mucciarelli ,M. and Maffei ,M., (2002)**. *Artemisia*: Introduction to the Genus Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp: 10-16.

📖 **Nauciel, C., (2000)** .Bactériologie médicale, Masson .Ed.Paris.

- 📖 **Nostro, A. ; Germanò ,M. p. ; D'Angelo ,V. ; Marino, A. et Cannatelli, M.a. ,(2000).** Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lettres en microbiologie appliquée*. 30 (5), p379.
- 📖 **Ouissat, M; Bakini, A.,(2009).**Antibiotiques anti-staphylocoques. DES en Microbiologie. Université Kasdi merbah Ourgla.P91.
- 📖 **Patrick, B. ; Jean L., and Michel ,S., (1988).** Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. pp: 100-108-274.
- 📖 **Paul ,T. ; Françoise,V. ; Bambeke, (2008).** Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse : Antibiotiques. Antifongiques.
- 📖 **Pavela ,R. ,(2009).** Larvicidal effects of some Euro-Asiatic plants.
- 📖 **Pelmont ,J., (2005).** Biodégradations et métabolismes: les bactéries pour les technologies de l'environnement. *Collection Grenoble sciences*. L'Editeur :EDP Sciences. p 124.
- 📖 **Pibiri, M.-C., (2006) .**Thèse de doctorat " Assainissement Microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles" , Université de Lausanne, EPFL.
- 📖 **Pierre, C., (2012).** L'usage des substances antimicrobiennes en production animale : position des experts et des gouvernements. Direction de la santé environnementale et de la toxicologie, Institut national de santé publique du Québec.
- 📖 **Pottier, G., (1981).** *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes–dicotylédones–gamopétales, p 1012.
- 📖 **Prescottm, L; Harly, J; Kleind, A., (2003).**Microbiologie. Ed.Boock et larcien, bruxell.P113
- 📖 **Proksch ,P. ;Hansel, R.; Keller, K.; Rimpler, H.; Schneider, G.; and Hrsg (Eds.), (1992).**Artemisia. In Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis. Springer-Verlag, Berlin, pp.357-377.
- 📖 **Quezel ,P. ; et Santa ,S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, *Ed. CNRS*, Paris.
- 📖 **Rechet,G. ; et Idatte ,J-M ,(1998).** Néphrologie Ellipse,; pp :399.

📖 **Richard, C. ; et Kiredjian, M., (1995).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts: Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucelle, Bordetella. 2ème édition. Ed Institut. Pasteur .Paris. pp: 42-43.

📖 **Roulier ,G., (1992).** Les huiles essentielles pour votre santé. Traité pratique d'aromathérapie : propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Edt. Dangles. France.

📖 **Sacchacter, Medoff et Elisentin, (1999).** Microbiologie et pathologie infectieuse, 2<sup>ème</sup> édition, pp :736.

📖 **Saleh ,N. A M.; El- Negoumy ,S. I.; Abd-Alla, M. F.; Abou- Zaid ,M. M.; Dellamonica, G.; Chopin ,J., (1985).** Flavonoid glycosides of *Artemisia monosperma* and *A. herba alba*. *Phytochemistry*, 24 : 201 - 203.

📖 **Saleh, N.A.M.; El-Negoumy ,S.I.; Abou-Zaid ,M.M., (1987).** Flavonoids of *Artemisia judaica, monosperma and Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 26 : 3059 - 3064.

📖 **Salton, M.R.J & Tomasz A., (1974).** Mode of action of antibiotics on microbial walls and membranes. *Ann. NY. Sci.*, 235: 1-31.

📖 **Schnaubelt, K., (1998).** Advanced Aromatherapy. Vermont: Healing Arts Press.

📖 **Schwämmle, B.; Winkelhausen ,E.; Kuzmanova ,S.; et Steiner, W. ,(2001)** .Isolation of Carvacrol Assimilating Microorganisms. *Biotechnol.* 39 (4), 341-345.

📖 **Schwartz, R.; Davis, R.; & Hilton, T.J., (1992).** Effect of temporary cements on the bond strength of resin cement. *Am. J. Dent.*, 5(3): 147-150.

📖 **Seddiki, M., (2007).** Infection urinaire en pédiatrie et profil de résistance aux antibiotiques. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'étude supérieure en biologie, option microbiologie, université d'Ouargla.

📖 **Siegenthaler, W.; & Luthy, R., (1978) .**Current chemotherapy. Proceeding 10th international congress of chemotherapy.II. Washington DC, Am. Soc. Microbiol.,

📖 **Sourai ,P.G., (1989).** Antimicrobial action of dental materials used in operative dentistry: a review *Odontostomatol. Proodos.*, 43(5) : 399-408.

📖 **Steven, P.; Rachel, C.; Martha, E.; Paul, H.; Jane, S.; and Peter, W.J., (2004).** *Microbiology of Waterborne Diseases*. Ed Elsevier Academic Press. Pp71-132.

📖 **Tiout, D., (2013).** Examen cyto bactériologique des pus[en ligne] sur :  
[Microcsb.net](http://Microcsb.net).

📖 **Tony, H. ; Paul S., (1999).** Atlas de poche de microbiologie. Édition 2<sup>eme</sup>. Paris.

📖 **Valnet, J., (1974).**Phytothérapie et aromathérapie : nouvelles observations. Plantes médicinales et phytothérapie. 8 : 229-236.

📖 **Wan, J.; Wilcock, A.; Coventry, M.J., (1998).** “The effect of essential oils of basil of the growth *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*.” J. Appl. Microbiol., 84: 152-158.