

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل

Université Mohamed -Seddik Ben Yahia –Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de microbiologie Appliquée
Et Sciences Alimentaires



قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية وعلوم التغذية

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

Option : Microorganismes et Pathogénicité

Thème

**Activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique
d'*Eucalyptus globulus* sur les souches microbiennes
cliniques responsables d'otites**

Membres de Jurys :

Président : M^r KHENNOUF T.

Examinatrice : M^{me} BOUSSOUF L.

Encadreur : M^{me} BENHAMADA W.

Présenté par :

M^{lle} : Aissani Sarra.

M^{lle} : Beltiten Leila.

Année Universitaire : 2016-2017

N°d'ordre (bibliothèque) :.....

Remerciement

Après avoir remercié Allah le tout puissant qui nous a tracé le chemin de nos Vies et nous a aidé d'accomplir nos études, nous tenons à remercier vivement notre encadreur M^{me} Benhamada.W pour nous avoir accepté d'encadrer et nous a suivi et orienter pendant toute la période de notre travail.Nous la remercions du fond de nos cœurs pour ces précieux conseils.

Nous exprimons nos chaleureux remerciements à M^r Khennouf.T qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury et estimer ce travail. Qu'il trouve ici nos sincères impressions de gratitude et de respect.

Nous exprimons nos sincères remerciements a M^{me} Boussouf.L qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail .Qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses.

Un remerciement particulier s'adresse à M^r Remili.T docteur spécialiste en ORL et son infirmière pour son aide précieuse qu'il n'a cesse de nous prodiguer durant toute la période de ce travail et surtout pour sa gentillesse. Nous exprimons nos profondes reconnaissances.

Un grand merci s'adresse à M^{me} Belhimer Assia responsable de la bibliothèque de l'institut national de formation paramédical de Jijel pour avoir accepté de nous accueillir au sein de son établissement et surtout pour sa gentillesse. Nous le remercions de nous avoir permis réaliser nos recherches pour ce travail.

Nos vivent remerciement s'adressent à toute le personelle de l'unité de microbiologie au niveau de l'université de Jijel. Et à tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin à l'achèvement de ce modeste travail.

Sarra et Leila

Dédicace

A mes très chers parents, qui m'ont aidé à affronter cette vie, nulle dédicace ne peut exprimer mes sincères sentiments pour leurs patience illimitée, leurs encouragement continu leurs aide en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices ;

Mon très cher père 'Mustapha' qui m'a toujours protégé et garni mes chemins avec force et lumière.

Ma plus belle perle du monde ma tendre maman 'Saida' en guise de reconnaissance et de gratitude pour les sacrifices qu'elle a fait.

Vos prières et vos conseils m'ont toujours accompagné et ont éclairé mon chemin

Puisse le tout puissant vous accorder meilleure santé et longue vie.

A ma chère sœur Imene ; Tu es mon ange gardien, toujours présente à mes côtés pour me soutenir, m'aider et m'encourager. Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi que dieu te bénisse et te guide vers le meilleur incha'Allah

A mes chères frères Houssam, Nabil pour ses soutiens moraux et ses conseils précieux, avec tout mes vœux de les voir réussir dans leurs vie.

A ma belle sœur Zlikha , ma cousine Feriel et toute ma grande famille.

A mes très chères Sara ; Amina ; Je vous dédie mon travail en témoignage de mon sincère attachement, pour votre grand amour qui m'ont aidé et supporté dans les moments difficiles. Je n'oublierai jamais les moments agréables qu'on a vécus ensemble.

A mon cher binôme pour la sœur agréable qu'elle était et qu'elle restera inc'Allah pour son entente et sa sympathie.

A tous mes proches, a mes ami(e)s. Je vous souhaite tout le succès et le bonheur du monde.

A tout ceux qui m'ont aidée afin de réaliser ce travail ; a toute personne qui ma aidé a franchir un horizon dans ma vie, et a tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Sarra

Dedicace

Je dédie ce travail à toute la famille **Beltiten** à mes chers parents :

Ma mère **Safia** qui a œuvré pour ma réussite, et par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père **Saiid**, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mes frères **Taher, Ilyes, Fateh et Khaled**, mes sœurs **Lziwa, Souad, Fayrouz, et Ibtissem** qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

A toute ma famille et mes amies, ceux et celles qui m'ont connu pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

A ma chère **Ayet**, je la remercie pour ses conseils, sa gentillesse et son encouragement.

A ma chère amie, mon binôme, **Sarra** qui m'a supporté durant ces trois dernières années et avec qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin.

A la fin je dédie ce travail à tous qui encouragé nous pour réaliser se travail et n'oublier pas les enseignant et à toute la promotion de microorganisme et pathogénicité de juin

Leila

Table des matières

Liste des tableaux	i
Liste des figures	iii
Liste d'abréviation	iv
Introduction	01

Partie bibliographique

I. Généralités sur les otites

I.1. Définition de l'oreille.....	03
I.2. Anatomie de l'oreille.....	03
I.3. Définition de l'otite.....	03
I.4. Les différents types d'otites.....	04
I.4.1. Otite externe.....	04
I.4.1.1. Facteurs environnementaux	04
I.4.1.2. Facteurs cutanés.....	04
I.4.2. Otite moyenne.....	05
I.4.2.1. Facteurs anatomiques.....	05
I.4.2.2. Facteurs liées à l'hôte.....	05
I.4.2.3. Facteurs environnementaux et sociaux	06
I.4.3. Otite interne.....	06
I.5. Microorganismes responsables d'otites.....	06
I.5.1. <i>Haemophilus</i>	06
I.5.2. <i>Staphylococcus</i>	07
I.5.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	07
I.5.3. <i>Streptococcus</i>	07
I.5.4. <i>Maroxella catarrhalis</i>	08

I.5.5. <i>Asperillus</i>	08
I.5.6. Virus.....	08
II. Généralités sur l'<i>Eucalyptus</i>	
II.1. Description botanique et géographique de l' <i>Eucalyptus</i>	10
II.2. Composition chimique de l' <i>Eucalyptus</i>	10
II.2.1. Les huiles essentielles	10
II.2.2. Autres constituants chimiques	11
II.3. Usages de l' <i>Eucalyptus</i>	11
II.3.1. Usages thérapeutiques	11
II.3.1.1. Usages antimicrobiens	11
II.3.1.2. Usage anti-inflammatoire	11
II.3.1.3. Usage dermatologique et antiseptique	12
II.3.2. Usages industriels	12
II.3.2.1. Usage pharmaceutique	12
II.3.2.2. Usage cosmétique	12
II.3.3. Autres usages	12

Partie Expérimentale

III: Matériel et méthodes

III .1. Objectif	13
III.2. Matériel végétal	13
III.2.1. Taxonomie	13
III.2.2. Description d' <i>Eucalyptus globulus</i>	13
III.3. Matériel de laboratoire.....	14
III.3. 2. Matériel et appareils.....	14
III.4. Préparation de l'extrait	14

III.4.1. Echantillonnage.....	14
III.4.2. Broyage	15
III.4.3. Extraction des composés phénoliques	15
III.4.3.1. Macération.....	15
III.4.3.2. Filtration	16
III.4.3.3. Evaporation	16
III.4.3.4. Conservation de l'extrait obtenu	17
III.4.4. Détermination du rendement d'extraction	19
III.5. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique..	19
III.5.1. Prélèvements microbiologiques	19
III.5.1.1. Isolement des germes	19
III.5.1.2. Identification des germes isolés.....	20
III.5.2. Conservation des souches.....	20
III.5.3. Repiquage des souches bactérien	20
III.5.4. Préparation de l'inoculum	20
III.5.5. Activité antimicrobienne	21

IV: Résultats et discussion

IV.1. Rendement de l'extraction	22
IV .2. Résultats de l'identification	22
IV.2.1. Identification macroscopique et microscopique des souches.....	22
IV.2.2. Identification biochimique	26
IV.2.2.1. Test catalase.....	26
IV.2.2.2. Test coagulase	27
IV.3. Activité antimicrobienne d'extrait méthanolique d' <i>Eucalyptus globulus</i>	27
IV.3.1. effet sur la bactérie <i>Streptococcus sp</i>	27
IV.3.2. effet sur l'espèce <i>Staphylococcus aureus</i>	28

IV.3.3. effet sur les levures	29
IV.3.4. Effet sur <i>Aspergillus sp</i>	29
Conclusion	32
Références Bibliographiques	33
Annexes	

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Prélèvements microbiologiques à partir des patients souffrant des otites	19
Tableau II	Rendement d'extraction méthanolique d' <i>Eucalyptus globulus</i> .	22
Tableau III	Aspect macroscopique des germes isolés sur Gélose nutritive et PDA	23
Tableau IV	Aspect macroscopiques des colonies bactériennes isolées sur milieux sélectifs	23
Tableau V	Aspect macroscopique des bactéries isolées sur milieu Baird-Parker après repiquage sur milieu Chapman	24
Tableau VI	Observation microscopique des souches fongiques	25
Tableau VII	les résultats de la coloration de Gram (Grossissement $\times 100$)	26
Tableau VIII	Diamètres des zones d'inhibition en (mm) obtenus par l'extrait méthanolique d' <i>E.globulus</i> et le méthanol sur <i>Streptococcus sp</i>	27
Tableau IX	Diamètres des zones d'inhibition en (mm) obtenus par l'extrait méthanolique d' <i>E.globulus</i> et le méthanol sur <i>S.aureus</i>	28
Tableau X	Diamètres des zones d'inhibition en (mm) obtenus par l'extrait méthanolique d' <i>E.globulus</i> et le méthanol sur les levures	29

Tableau XI	Diamètres des zones d'inhibition obtenus en (mm) par l'extrait méthanolique d' <i>E.globulus</i> et le méthanol sur <i>Aspergillus sp</i>	29
-------------------	---	-----------

Listes des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Structure anatomique de l'oreille	3
Figure 2	Otite externe	4
Figure 3	La plante d' <i>Eucalyptus globulus</i>	10
Figure 4	Structure chimiques des deux composants des huiles essentielles de l' <i>Eucalyptus</i>	11
Figure 5	Photo feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	14
Figure 6	Photo de l'échantillon broyé	15
Figure 7	Photo de macération sur agitateur	16
Figure 8	Photo de filtration à l'aide de papier Filtre	16
Figure 9	Photo de l'évaporation de l'extrait méthanolique	17
Figure 10	Protocole générale de l'extraction des polyphénols	18

Liste des abréviations

Abréviation	Désignation
Ans	Année
Cm	Centimètre
°C	Degré Celsius
G	Gramme
Gram +	Gram positif
Gram -	Gram négatif
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
H ₂ O	Monoxyde de dihydrogène (eau)
H	Heure
<i>H.influenzae</i>	<i>Heamophilus influenzae</i>
H.E	Huile Essentiel
K ⁺	Ion de Potassium
M	Mètre
ml	Millilitre
Mm	Millimètre
Mins	Minutes
N°	Numéro
NB	Noté bien
OM	Otite moyenne
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ORL	Oto-rhino-laryngologies
O ₂	Dioxygène
PDA	Potato Dextrose Agar
pH	Potentiel hydrogène

Liste des abréviations

S.aureus

Staphylococcus aureus

S.pneumoniae

Streptococcus pneumoniae

Sp

Espèce

UFC/ml

Unité Faisant Colonie par millilitre

VRS

Virus Respiratoire Syncytial

µm

Micromètre

µl

Microlitre

%

Pourcent

Synthèse
Bibliographique

Introduction

La sphère Oto-Rhino-Laryngologie (ORL) est le carrefour d'un grand nombre d'affections et de pathologies touchant aussi bien les enfants que les adultes, les maladies les plus courantes : angines, rhinites, sinusites, otites, bronchiolites sont souvent bénignes et elles peuvent survenir en toute saison.

Au niveau de cette sphère la région de l'oreille qui joue un rôle très important dans le corps humain comprend différentes structures anatomiques qui peuvent être le point de départ des lésions variées.(**Wassef, 2009**)

La pathologie de l'oreille la plus fréquente est l'otite, dans le langage médical ce terme englobe toutes les infections ou les inflammations de l'oreille qui sont soit causées par des virus, des champignons ou des bactéries, l'otite peut atteindre séparément les trois parties de l'oreille et avoir des signes cliniques complètement différents (**Mudry, 2015**).

Actuellement, du fait de l'augmentation de la résistance microbienne, et à cause de l'inefficacité des traitements avec les antibiotiques actuels, il est indispensable de rechercher de nouvelles substances antimicrobiennes efficaces, à large spectre d'action et surtout qui ne sont pas nocifs à l'homme et à l'environnement. Une des stratégies pour cette recherche consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle (**El-Haci et al., 2012**).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que environ 80% des habitants de la planète ont recours à la médecine traditionnelle à base de plante en tant que soins de santé primaire (**Krishnaiah et al., 2012**) En plus dans le monde, près de 25% des prescriptions sont à base de plantes et 60 à 70% des médicaments antibactériens et anticancéreux sont des substances d'origine naturelle (**Diallo, 2005**).

En raison de sa position géographique particulière qui lui accorde une large bonde de végétation environ 3000 espèces de plantes aromatiques et médicinales, l'art de guérir par ces plantes est connu et pratiqué en Algérie depuis bien longtemps il exploite des savoirs transmis oralement d'une génération à une génération.

Un exemple de ces plantes l'*Eucalyptus* qui est considéré comme un arbre aromatique, indigène en Australie et introduits dans de nombreux pays, notamment en Algérie en 1857 pour drainer les terrains de régions touchées par le malaria (**Treiner, 2000 ; Boulekbache-Makhlouf et al., 2010**).

En outre l'*Eucalyptus* a beaucoup d'utilisations thérapeutiques ; il est recommandé surtout lors des infections respiratoires comme l'asthme ; les rhino-pharyngites, les sinusites, les bronchites et la toux (**Haddad et al., 201**

Introduction

Les composées chimiques des plantes sont utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. **(Bouzouita et al., 2008).**

A cette effet, nous avons essayé de mettre en évidence l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus globulus* sur les souches cliniques responsables des otites .

Nous avons organisé notre travail en quatre grandes parties:

- La partie I consiste à une simple synthèse bibliographique sur les otites.
- La partie II représente une illustration sur la plante utilisée.
- La partie III représente l'étude expérimentale et les méthodes analytiques de notre travail
- La partie IV est consacrée à la présentation des résultats obtenus et leurs discussions.
- Enfin, notre travail est clôturé par une conclusion.

*I : Généralités sur les
otites*

I. Généralités sur les otites

I.1. Définition de l'oreille

L'oreille est un organe neurosensoriel, pair et symétrique, à double fonction : l'audition et un rôle très important dans l'équilibre, elle occupe de cavités creusées dans le rocher de l'oreille (Leger-Boucher, 1966 ; Ayache et Bonflis, 2006).

I.2. Anatomie de l'oreille

La région de l'oreille est divisée en trois grandes zones de structures et de fonction différentes (figure 1) (Wainsten *et al.*, 2006)

L'oreille externe : capte les ondes sonores et les canaliser vers la profondeur (Wassef, 2009).

L'oreille moyenne : transmet les vibrations de l'oreille externe à l'oreille interne (Leger-Boucher, 1966).

L'oreille interne : contient les organes sensoriels de l'audition et de l'équilibre ainsi que leurs nerfs afférents (Wassef, 2009).

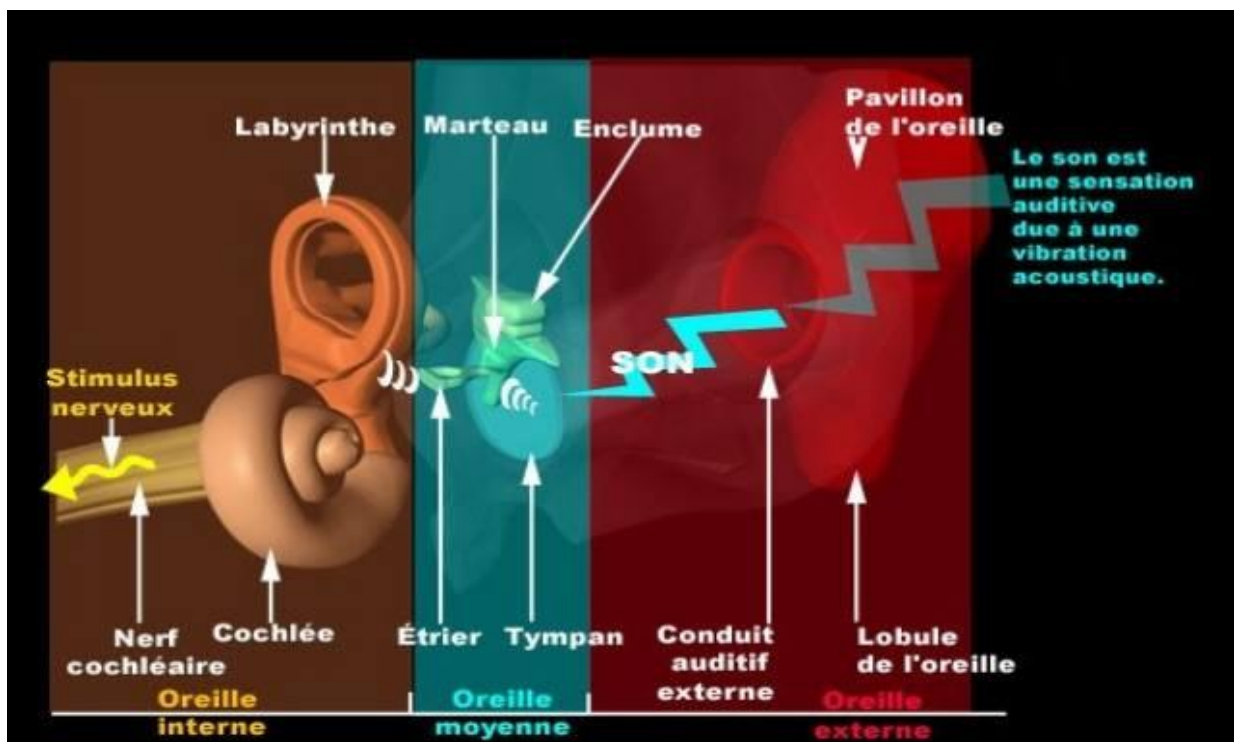


Figure1 : structure anatomique de l'oreille (Wainsten *et al.*, 2012)

I.3. Définition de l'otite

L'otite est l'une des pathologies de la sphère ORL ; c'est une inflammation de la peau ou de la muqueuse située au niveau de l'oreille. En fonction de la position et des caractéristiques de

l'inflammation l'otite va porter un nom spécifique : otite externe (figure 2), moyenne ou interne. (Wainsten et al, 2012).

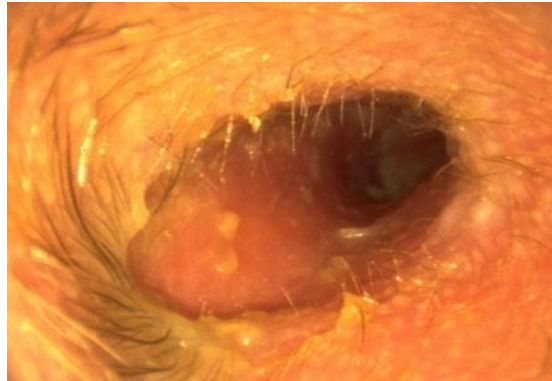


Figure2 : Otite externe (Wainsten et al., 2012)

I.4. Les différents types d'otites

I.4.1. Otite externe

Souvent appelée l'otite du baigneur, c'est une pathologie très fréquente de l'oreille externe qui touche particulièrement tous les âges, elle est essentiellement estivale, liée aux baignades et aux traumatismes du conduit (Grauzard et al., 2016). Ce type d'otite est favorisé par plusieurs facteurs :

I.4.1.1. Facteurs environnementaux

L'inflammation diffuse suite à un traumatisme ou à une irritation de la mince couche de la peau dans le conduit auditif, cette irritation peut être causée par le grattage ou par l'introduction d'objets dans le canal externe de l'oreille (utilisation de coton-tige ou d'autre manœuvre intempestive de nettoyage des oreilles). Elle peut aussi être secondaire à l'humidité dans le canal après une longue durée dans l'eau (piscine, mer, douche), l'eau qui entre dans le conduit auditif dégrade le revêtement protecteur de la peau ce qui provoque des otalgies intenses (Nicollas et Trigia, 2002 ; Lepère, 2004).

I.4.1.2. Facteurs cutanés

L'inflammation peut résulter d'une lésion de la peau causée par l'eczéma, qui est un facteur indéniable de fragilisation cutanée face à l'infection, hypohidrose par la modification du pH de surface qu'elle entraîne, hyposécrétion de cérumen favorise la survenue d'otite externe (Nicollas et Trigia, 2002 ; Lepère, 2004 ; Tremblay, 2008). D'autres facteurs cutanés sont connus comme la desquamation de la peau qui entraîne des fissures constituant la porte d'entrée de nombreux organismes infectieux (Charles, 2013). Ces facteurs favorisent la prolifération non seulement des bactéries (*Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas*

aeruginosa) mais aussi des champignons (Dans 10 % des cas, il s'agit d'une mycose essentiellement à *Aspergillus*), l'infection n'est pas contagieuse (Grauzard et al., 2016).

I.4.2. Otite moyenne

Il s'agit de l'infection la plus fréquente parmi les maladies pédiatriques qui touchent les enfants de moins de 3 ans. C'est une inflammation aiguë d'origine infectieuse avec ou sans suppuration du revêtement conjonctivo-épithélial des cavités de l'oreille moyenne (Kurz, 2011). La contamination infectieuse provient du rhinopharynx et des cavités nasales par l'intermédiaire de la trompe d'Eustache (Debry et al., 2011). L'otite moyenne (OM) est influencée par plusieurs facteurs :

I.4.2.1. Facteurs anatomiques

L'oreille moyenne est reliée à la gorge par un petit conduit appelé trompe d'Eustache, permettant le drainage physiologique du mucus sécrété dans l'oreille moyenne et d'assurer l'équilibre de pression entre l'oreille moyenne et rhinopharynx. Chez les nourrissons, la trompe d'Eustache est, anatomiquement, courte et horizontale. Au plan fonctionnel, elle est immature, ses mouvements d'ouverture-fermeture étant incoordonnés et moins efficaces. L'inflammation nasale résultant d'une rhinite allergique ou bien d'une infection des voies respiratoires hautes est un facteur de risque de dysfonctionnement de la trompe d'Eustache ; provoquant l'accumulation des sécrétions dans l'oreille moyenne ; les virus et les bactéries qui sont normalement présents dans le pharynx atteignent l'oreille moyenne par la trompe d'Eustache et y causent une infection, le pus ainsi formé pousse sur le tympan qui devient rouge, bombé et douloureux (Barry, 2005 ; Melançon, 2008 ; Sarlandie, 2012 ; Mutuelle, 2015).

I.4.2.2. Facteurs liés à l'hôte

Le jeune âge est le principal facteur de risque de survenue d'une otite. L'otite moyenne est une pathologie qui survient le plus souvent chez l'enfant de moins de 4 ans avec un pic dans la période de 6 à 12 mois. Le sexe masculin serait plus exposé (Barry, 2005 ; Baculard, 2007 ; Mutuelle, 2015). Il existe une incidence plus grande de la survenue d'otite moyenne chez les enfants ayant une fente palatine, aussi le reflux gastro-œsophagien, la survenue d'épisodes d'OM est plus importante chez les enfants anémiques que chez les enfants non anémiques, ainsi que l'immaturité du système immunitaire de l'enfant est certainement un facteur important de survenue d'OM (Lescanne et al., 2006 ; Baculard, 2007).

I.4.2.3.Facteurs environnementaux et sociaux

Le mode de garde des enfants en collectivité, notamment en crèche augmente le risque d'exposition aux germes pathogènes responsables des infections respiratoires et les otites en particulier.

Le tabagisme passif notamment le tabagisme maternel pendant la grossesse est un facteur de risque de survenue d'OM à répétition .Certaines études montrent que l'allaitement aurait une protection immunologique contre l'OM, Il a souvent été reconnu comme un facteur qui permet de protéger des OM chez l'enfant normal ou l'enfant avec une fente palatine. Ce lait maternel contient des anticorps, de l'interféron, la lactoferrine et du lysozyme qui renforcent les défenses immunitaires (**Barry, 2005 ; Baculard, 2007 ; Melançon, 2008 ; Mutuelle, 2015**).

I.4.3. Otite interne

Aussi appelée la labyrinthite, c'est une inflammation à la fois de la cochlée et du système vestibulaire situé dans l'oreille interne. C'est une infection qui peut être d'origine bactérienne ou virale, sévère, rare et redoutée, car elle provoque souvent des dégâts irréversibles se manifestant par une perte de l'audition plus ou moins importante (**Marchal, 2013 ; Richard et al., 2016**).

L'otite interne se développe le plus souvent dans le cadre d'une otite moyenne aigue ou des méninges de l'oreille interne, parfois même elle est le résultat d'une maladie comme la syphilis lorsque les agents pathogènes pénètrent dans la circulation sanguine au niveau de l'oreille interne. Chez les nourrissons qui souffrent d'une infection virale comme les rougeoles, les oreillons ou la grippe, une infection de l'oreille interne survient fréquemment. Elle peut être rencontrée aussi après une chirurgie de l'oreille moyenne. Dans des très rares cas, il existe une corrélation entre une maladie auto-immune et la labyrinthite (**Mudry, 2009 ; Theoleyre, 2012**).

I.5.Microorganismes responsables des otites

I.5.1.Haemophilus

Ce sont des bacilles à Gram négative qui nécessitent pour leur croissance des milieux enrichis de sang, toujours immobiles, peuvent être pléomorphes ou filamenteuses .Ils existent de nombreux espèces d'*Haemophilus* mais l'espèce la plus importante en pathologie humaine est nommée *Haemophilus influenzae* (**Berche et al., 1991**). Cette espèce fait partie des coccobacilles à Gram négative aérobies, asporulés. Les souches virulentes ont des capsules polysaccharidiques, alors que les souches non encapsulés font partie de la flore commensale des voies respiratoires chez la totalité des êtres humains (**Agrawal et Murphy, 2011**).

Ces espèces sont responsables de nombreuses infections aiguës chez l'enfant en particulier des méningites, en outre de très grandes infections à *H.influenzae* sont localisées à la sphère oto-rhino-laryngologique provoquant des angines, pharyngites, sinusites, otites, parfois même des infections cutanées par extension locale de l'infection et des inflammations des voies aériennes (King, 2012).

I.5.2. *Staphylococcus*

Ce sont des pathogènes humains anciens, fréquents, polyvalents et importants, anaérobies à métabolisme respiratoire et fermentaires, se cultivent sur le milieu ordinaire en 24 heures, apparaissent à l'examen microscopique comme des cocci à Gram positive, sphériques de 0,8 à 14 µm de diamètre. Ces germes disposés en grappe de raisin, immobiles, asporulés et capsulés (Berche et al., 1991).

I.5.2.1. *Staphylococcus aureus*

Se cultive sur milieu hyper salé, les colonies apparaissent lisses, convexes de 1 à 4 mm de diamètre capable de produire un pigment jaune doré ou citrin, catalase positive, capable de fermenter le mannitol et de produire des enzymes extracellulaires (Franklin et Lowy, 1998).

C'est un pyogène, source d'abcès dans la peau, et la plupart d'organes des bactériémies et des endocardites et producteur de nombreuses toxines. Toutes lésions même minime du revêtement cutanéomuqueux (traumatismes, blessures, brûlures), peut permettre la colonisation des tissus par les staphylocoques dorés de la flore commensale, la présence d'un corps étranger entraîne la pullulation d'un nombre parfois très faible de genre à son contact. Le mécanisme de virulence du *S.aureus* est surtout due à la sécrétion de nombreuses toxines et enzymes qui ont un effet dermo-nécrotique et anti-phagocytose (Foster, 2004 ; Tong et al., 2015).

I.5.3. *Streptococcus*

Ce sont des cocci à Gram positive, se disposant en chaînette plus au moins longues, elles ont un métabolisme anaérobie mais peuvent cultiver en présence de l'air, nécessite habituellement des milieux riches (Jevitz-Paterson, 1996 ; Nauciel et Vildé, 2005 ; Bousseboua, 2012). Catalase négative, nitrate négative et fermente les sucres en acide lactique et produits aromatiques (Ait Abdelouahab, 2008). L'espèce la plus répandue dans les otites est *Streptococcus pneumoniae*, cette dernière ayant les mêmes caractères morphologiques du genre, cependant la plupart des souches tolèrent l'oxygène, nécessitent généralement des milieux de culture complexes et qui sont exigeants en nombreux facteurs de croissance tel que le sang (Jevitz-Paterson, 1996).

Les pathologies broncho-pulmonaires associés à ce germe sont des pneumonies, des bronchites, et des infections ORL, des otites, des sinusites, et des mastoïdes, se compliquant le plus souvent à des méningites. (Alonso et al., 1995).

I.5.4. *Maroxella catarrhalis*

Anciennement appelé *Branhamella catarrhalis* est un coccus à Gram négative immobile associé en diplocoque ou en tétrades, aérobie strict, catalase positive, oxydase positive, nitrate réductase positive, et saccharose négative. Après 24 heures d'incubation, les colonies sont généralement grises à blanches, opaques et lisses. La bactérie pousse aussi bien sur les milieux au sang que sur les géloses chocolat (Hamedelnil et al., 2013).

Etant considéré comme pathogène strictement humain, *Maroxella catarrhalis* a tendance à être associée à des infections des voies respiratoires supérieures, provoquant des laryngites, des otites moyennes et des sinusites chez les enfants. D'autres infections ont été décrites chez les adultes, elles peuvent être impliquées également dans les infections des voies respiratoires inférieures chez les adultes présentant une maladie pulmonaire préexistante (Furano et al., 2005; Hays, 2009; Sano et al., 2010). Lors des otites moyennes, *Maroxella catarrhalis* est le troisième pathogène responsable de l'infection après *S.pneumoniae* et *H.influenzae* (Hays., 2009).

I.5.5. *Aspergillus sp*

Le nom *Aspergillus* est destiné au genre des champignons imparfait (Deutéromycètes), il s'agit des espèces anamorphes (asexuées) ayant des formes télomorphes, filamenteux septés de 7 à 10 µm de diamètre et plusieurs centaines de µm de long, les colonies apparaissent de couleur blanche, verte, jaune ou noire, le genre est subdivisé en sept sous genres qui regroupent chacun plusieurs espèces. On répertorie plus de 185 espèces du genre *Aspergillus*, dont 40 sont responsables d'infections chez l'homme et l'animal. (Verweij et al., 2007 ; Samson et al., 2009).

Dans la plupart des cas l'aspergillose humaine qui survient primitivement dans l'oreille externe y reste limitée (otomycose), la forme la plus grave est une atteinte broncho-pulmonaire qui rassemble cliniquement à la tuberculose (Bennet, 2009 ; Thompson et Stewart, 2016).

I.5.6. Virus

La plupart des virus responsables d'infections respiratoires sont également capables d'être responsables ou de participer aux otites. Parmi les principaux virus, citons le virus respiratoire

syncytial (VRS), les virus para-influenza 1, 2 et 3, les virus grippaux A et B, les adénovirus, les rhinovirus et certains entérovirus (**Lescanne et al, 2006**).

*II : Généralités sur
l'Eucalyptus*

II. Généralités sur l'*Eucalyptus*

II.1. Description botanique et géographique d'*Eucalyptus*

Le genre *Eucalyptus* fait partie de la famille des Myrtacées, son nom a pour origine Eu= bien, kaluptos=couvert, originaire d'Australie notamment de la province de Tasmanie. Les *Eucalyptus* sont des grands arbres dont certaines espèces peuvent atteindre les 100 mètres d'hauteur, ils furent rapidement plantés dans les régions subtropicales de l'Asie et du bassin méditerranéen (Beloued, 2005).

Les jeunes feuilles d'*Eucalyptus* sont séreuses, claires, opposées, mais ce sont les feuilles paissant sur les veilles branches qui sont officinales (figure 2). Elles sont alors falciformes, alterne, pétiolés d'une odeur agréables(Baba-Aissa, 1990).Son introduction en Algérie fut par les français en 1860,pendant les années 60 à 70, le reboisement à base d'*Eucalyptus* ont concernés notamment l'Est, le centre, et l'Ouest et ceci afin de répondre aux besoins nationaux (Belkou, 2005).



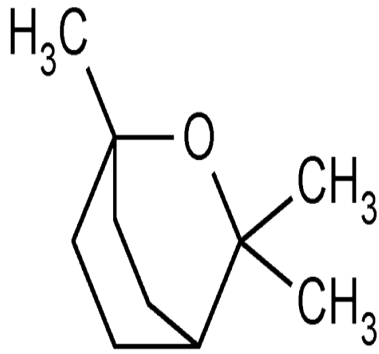
Figure 3 : La plante de l'*Eucalyptus* (Vieille, 2015)

II.2. Composition chimique d'*Eucalyptus*

II.2.1. Les huiles essentielles

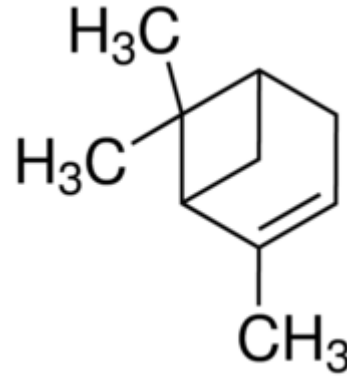
En phytothérapie, les parties utilisées d'*Eucalyptus* sont les feuilles des arbres arrivées à maturité fraîches ou sèches (Goetz et Ghédira, 2012).

Les composants les plus importants des feuilles (figure 4) sont le 1-8 Cineol ou Eucalyptol avec une teneur exceptionnelle de 49% à 83%, et d'alpha pinène avec une teneur de 1 à 26 % (Herchi et al., 2015).



Nom chimique : 1-8-cineol ou eucalyptol

Formule brute : $C_{10}H_{18}O$



Nom chimique : Alpha-pinène

Formule brute : $C_{10}H_{16}$

Figure 4 : Structure chimiques des deux composants des huiles essentielles de l'*Eucalyptus*.

(Zrira, 1992)

II.2.2. Autres constituants chimiques

Les feuilles d'*Eucalyptus* renferment des tanins, un pigment flavonoïque, leucalpitine, de l'alcool cérylique, un diphénol, et une résine acide (Schauenberger et Paris, 2005).

II.3. Usages d'*Eucalyptus*

II.3.1. Usages thérapeutiques

II.3.1.1. Usages antimicrobiens

Grâce à sa richesse en huiles essentielles et aux polyphénols, l'*Eucalyptus* peut être considéré comme un antibiotique naturel dans le cas des maladies broncho-pulmonaire : les gripes, les toux, les rhinopharyngites. (Ficher et Dethlesfen, 2013 ; Haddad et al., 2016).

L'*Eucalyptus* est recommandé comme un traitement antifongique dans le cas des candidoses (Zhou et al., 2016).

Sur le cuir chevelu, il débarrassera des poux et des différents parasites de l'homme et de l'animal, et éloigne les insectes et soigne les piqûres. (Luis et al., 2016)

II.3.1.2. Usage anti-inflammatoire

En raison de ses principes actifs : l'eucalyptol, le thymol, les flavonoïdes, l'*Eucalyptus* peut être appliqué dans le traitement de certaines inflammations : maladies gastro-intestinales. Il stimule les villosités qui couvrent les passages nasaux (Fabre et al., 1992).

Outre l'eucalyptol que contient l'*Eucalyptus* s'est révélé être efficace pour réduire la dose de corticostéroïdes utilisées par des sujets souffrant d'asthme (**Juergens, 2003**).

II.3.1.3. Usage dermatologique et antiseptique

Les propriétés antiseptiques d'*Eucalyptus* peuvent être appliquées dans l'utilisation externe pour le traitement d'affection cutané comme par exemple l'acné, l'herpès, les blessures, les brûlures, les ulcères de la peau et pour lutter contre la peau grasse (**Gille et al., 2010**).

II.3.2. Usage industriels

II.3.2.1. Usage pharmaceutique

L'*Eucalyptus* est utilisé dans l'industrie pharmaceutique pour la fabrication des sirops, des huiles, pommades, et baumes (**Raho et Benali, 2012 ; Harkat et al., 2015**).

II.3.2.2. Usage cosmétique

L'*Eucalyptus* est largement utilisé dans l'industrie cosmétique en raison de l'eucalyptol qu'il contient qui est un composant aromatique, ce qui permet à l'eucalyptus d'être présent comme un ingrédient majeur dans beaucoup de produits : savon, crème, désodorisant (**Baba-Aissa, 1990 ; Elaissi et al., 2012 ; Raho et Benali, 2012**).

II.3.3. Autres usage

L'*Eucalyptus* possède des propriétés hypoglycémiantes pour diminuer la concentration du sucre chez un diabétique, il agit aussi contre les rhumatismes, les douleurs articulaires et les migraines et stimule le système immunitaire (**Tesche et al., 2008**). Il soulage les muscles douloureux, C'est un analgésique, il est stimulant et tonique et servira avant et après le sport ou pour lutter contre la fatigue, il joue un rôle préventif (**Raho et Benali, 2012**).

Partie expérimentale

III : Matériels et méthodes

III.1. Objectif

L'objectif de notre étude est l'extraction et l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique d'eucalyptus sur les souches microbiennes responsables d'otites. Cette étude est réalisée au laboratoire pédagogique de Microbiologie au niveau de la faculté des sciences et de la nature à l'université de Jijel, durant la période Avril-Juin de l'année 2017.

III.2. Matériel végétal

L'espèce utilisée est nommée *Eucalyptus globulus*, elle a aussi été introduite sous plusieurs noms botaniques Gommier bleu, Eucalyptus globuleux, Eucalyptus officinal. Elle est connue aussi par les noms vernaculaires : Calitouss, كالييتوس « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie dans plusieurs différentes régions (Amit et al., 2011).

III.2.1. Taxonomie (Goetz et Ghedira, 2012)

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Dicotylédones*

Ordre : *Myrtales*

Famille : *Myrtaceae*

Genre : *Eucalyptus*

Espèce : *Eucalyptus globulus*

III.2.2. Description de l'*Eucalyptus globulus*

Très bel arbre est qui peut atteindre 30 à 40 m de hauteur. L'écorce de son tronc et de ses branches est de couleur gris-bleu à tendance à se détacher naturellement. La partie utilisée c'est les feuilles (figure5) ; ces feuilles agréablement odorantes sont persistantes a base cordée, apparaissent par paires opposées, sessiles et ovales étroitement attachés sur des tiges carrées, de couleur bleu-vert avec une surface cireuse de 8 à 15 cm de long et 4 à 8cm de large lorsqu'elles sont jeunes. Lorsqu'elles sont adultes elles sont portés alternativement sur la tige et sont brillantes de couleur vert à vert foncé, ils ont des pétioles et sont plus étroite et plus long (jusqu'à 37cm de long et 3 cm de large) que les jeunes feuilles et sont de forme de faucille avec de nombreuses glandes pétrolières.

Les fleurs sont blanches ou crème visibles au printemps, naissent à l'aisselle des feuilles. Le calice à la forme d'une toupie bosselée dont la partie large est couverte par un opercule qui se détache au moment de la floraison laissant apparaître de nombreuses étamines mais sans

pétales, ni sépales. Le fruit est la capsule anguleuse du calice, il renferme deux types de graines (Pierre et Lis, 2012).



Figure 5 : Photo des feuilles d'*Eucalyptus globulus*

III.3. Matériel de laboratoire

III.3.1. Réactifs consommables et milieux de culture

- Méthanol
- Papier filtre et papier Watman N°3
- Eau distillé, eau physiologie stérile
- Bouillon nutritif
- Gélose Chapman, Gélose Baird-Parker, Gélose nutritive, Gélose PDA, Gélose Columbia, Gélose Mueller-Hinton
- Violet de Gentiane, lugol , alcool , Fuschine et huile à émersion (coloration de Gram).

III.3.2. Matériel et appareils

- Ecouvillons stériles, micropipette et anse de platine
- Boîtes de Pétri, pipettes Pasteur et pipettes graduées.
- Bécher, spatule, entonnoir et tubes à essai
- Balance, balance analytique, agitateur et rotavapeur
- Bain-marie, réfrigérateur, autoclave
- Etuve, spectrophotomètre et microscope à camera

III.4. Préparation de l'extrait méthanoïque

III.4.1. Echantillonnage

Les feuilles de l'*Eucalyptus globulus* proviennent de la région de la wilaya de Jijel (Jijel ville). La récolte était entreprise manuellement durant le mois de Mars 2017. Les feuilles récoltées sont séchées à l'abri de la lumière et à la température ambiante.

III.4.2. Broyage

Les échantillons séchés sont broyés dans un broyeur de cuisine jusqu'à l'obtention d'une poudre sèche fine puis mis dans un bocal hermétique et conservés à sec (température ambiante) à l'abri de l'humidité.

Le broyage de la plante permet d'augmenter la surface de contact solvant-échantillon, une meilleure filtration du solvant au sein du matériel végétal ce qui a pour conséquence une augmentation du rendement d'extraction.



Figure6 : Photo de l'échantillon broyé

III.4.3. Extraction des composés phénoliques

III.4.3.1. Macération

L'extrait total est obtenu par la macération de trente grammes (30g) de poudre de l'*E.globulus* avec 200 ml de méthanol à 80% dans une fiole sur un agitateur pendant 48 heures à températures ambiante. (El-Haci et al., 2012).



Figure 7 : photo de macération sous agitateur

III.4.3.2. Filtration

Après la macération, la solution de l'*E.globulus* est filtrée à l'aide de papier filtre n°1. La filtration permet de clarifier les solutions d'échantillons et d'éliminer les particules solides issues des déchets de la plante.



Photo8 : Photo de filtration à l'aide de papier filtre n°1

III.4.3.3. Evaporation

Les filtrats obtenus de l'*E.gobulus* sont soumis à une évaporation sous vide à basse pression à 45°C à l'aide d'un rotavapeur de type Heidolph jusqu'à l'évaporation totale du solvant méthanolique et l'obtention de l'extrait sec (Diabete et al., 2009 ; Anejka et Joshi, 2009).



Figure 9: photo de l'évaporation de l'extrait méthanolique

III.4.3.4. Conservation de l'extrait obtenu

La conservation de l'extrait méthanolique exige certaines précautions indispensables ;

Il doit être conservé à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre stérile fermé hermétiquement pour le préserver de l'air et de la lumière (en utilisant le papier Aluminium) jusqu'à l'utilisation (photo1, annexe2). (**Mahmoudi et al., 2012**).

Le Protocole d'extraction des composés phénoliques est résumé dans la figure 10

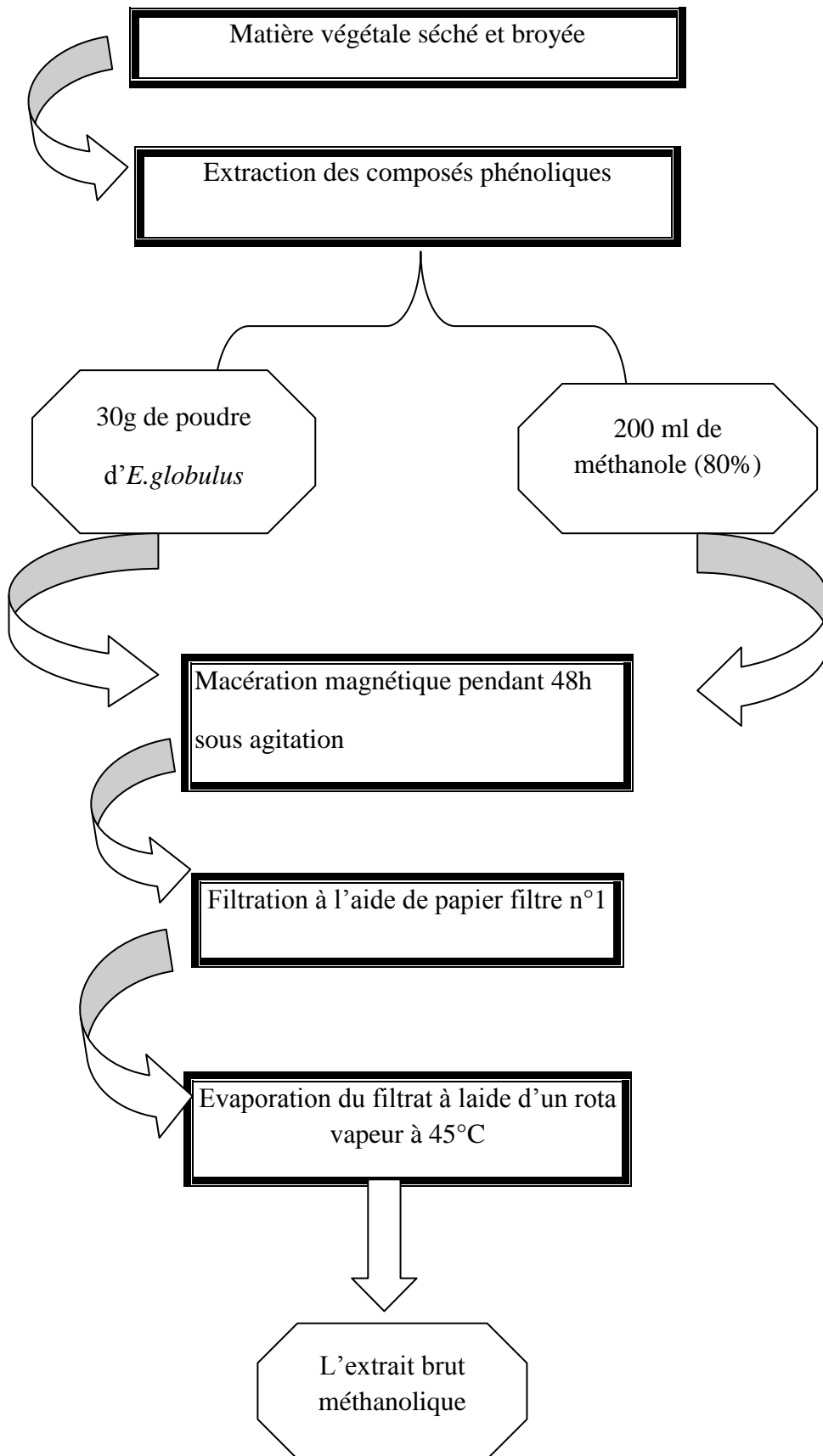


Figure 10: Protocole générale de l'extraction des polyphénols (El-Haci et al., 2012).

III.4.4. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction méthanolique est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée (Cheurfa et al., 2013).

Le rendement est exprimé en pourcentage, calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = P_s / P_p * 100$$

R : rendement de l'extraction en pourcentage

P_s : Poids de l'extrait sec en gramme

P_p : poids de la poudre en gramme

III.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique

III.5.1. Prélèvement microbiologique

Six prélèvements (6) ont été effectués chez un médecin ORL dans la wilaya de Jijel (Photo2, annexe2) à partir des patients de différents âges et sexes à des dates différentes souffrant des otites à l'aide des écouvillons stériles (tableau I). Ces prélèvements mis dans des tubes à essais stériles contenant le bouillon nutritif étaient acheminés vers le laboratoire de microbiologie de l'université de Jijel, ensuite mises à l'étuve de 37°C pendant 24h pour la recherche des bactéries et à l'étuve de 28°C pendant 72h pour la recherche des champignons. (Mentouri et al., 2013).

Tableau I : Prélèvements microbiologiques à partir des patients souffrant des otites.

Prélèvement	Date de prélèvement	Sexe	Age (ans)	Type d'otite
1	14/05/2017	Femme	74	Externe
2	14/05/2017	Homme	35	Externe
3	16/05/2017	Femme	38	Moyenne
4	22/05/2017	Femme	36	Moyenne
5	26/05/2017	Femme	12	Externe
6	01/06/2017	Femme	29	Externe

III.5.1.1. Isolement des germes

Après l'incubation des échantillons, les isolements ont été réalisés sur géloses nutritifs et PDA pour la recherche des germes responsables des otites.

Des écouvillons stériles ont été imbibés dans les bouillons nutritifs correspondant à chaque prélèvement et déposés à la surface des milieux préalablement coulés en boîte de Pétri et

refroidie puisensemencés selon la technique des stries. Les boites étaient ensuite incubées à 37°C pendant 24h et 28°C pendant 72h à l'étuve (Mentouri et al., 2013).

III.5.1.2. Identification des germes isolés

Après incubation, l'identification comporte une série d'étape, se commence d'abord par :

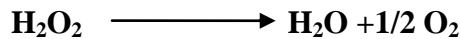
- **Examen macroscopique** : La morphologie des colonies et leur dimension sont étudiées à partir des cultures obtenues sur les milieux gélosés de Columbia et de Baird Parker.
- **Examen microscopique** : Cette examen est effectué sur un frottis bactérien, préparé à partir des colonies suspectes en cultures pures, puis fixé et coloré par la coloration de Gram.

✓ Identification des Staphylocoques

Les souches à Gram positif isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards (la coloration de Gram, catalase et test de coagulase).

❖ Recherche de la catalase

La catalase (Ferro porphyrine de poids moléculaire élevé) à la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène .C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne.(Tabak et Bensoltane, 2012 ; Uju et Obioma, 2011)



- ❖ **Recherche de la coagulase** La coagulase libre est présente chez *S.aureus*, mais aussi peut être produite, Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libérée dans le milieu extérieur. Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum (Garnier et Denis, 2007).

III.5.2. Conservation des souches

Les souches sont conservées sur gélose nutritive à une température de 4°C (ces bactéries sont placées dans un état de vie ralentie ou momentanément suspendue donc dans des conditions peu favorables pour leur multiplication).

III.5.3. Repiquage des souches microbiennes

Avant les tests de l'activité antimicrobienne, les différentes souches bactériennes et fongiques ont été repiquées sur les milieux gélosés appropriés par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 h et de 28°C afin d'obtenir une culture fraîche et des colonies isolées (La et al., 2008).

III.5.4. Préparation de l'inoculum

Des colonies bien isolées à partir des cultures fraîches de 24h ont été transférées dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile afin d'avoir des suspensions bactériennes et fongiques ayant une turbidité voisine à celle de 0.5 Mc Farland (10^8 UFC/ml) (Kablan et al., 2008 ; Athamena et al., 2010 ; Kuete et al., 2010)

III.5.5. Activité antimicrobienne

Le milieu de culture Mueller-Hinton est coulé dans des boîtes de Pétri de 90mm. Après solidification, chaque une des boîtes estensemencée à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans l'inoculum bactérien. Après l'ensemencement, des disques stériles en papier Wattman n°3 de 6 mm de diamètre sont déposés sur la gélose déjàensemencée à l'aide d'une pince stérile. Celle-ci ont été ensuite imprégné avec un volume de 10µl de l'extrait méthanolique (Athamena et al., 2010 ; Chebaibi et al., 2011).

Les boîtes sont fermées et laissées pendant 15 à 30 min à une T° ambiante pour une pré diffusion des substances avant d'être incubées à 37 C° à l'étuve pendant 24 h (Kablan et al., 2008 ; Djenadi, 2011).

L'absence de croissance microbienne autour des disques se traduit par un halo translucide (zone d'inhibition) (Karou et al., 2005 ; Cheurfa, et al., 2013).

La sensibilité des différentes souches vis-à vis l'extrait étudié est classée selon les diamètres des zones d'inhibitions (Djenadi, 2011; Djahra et al., 2013 ; Gauniyal et Teotia, 2014).

Ces diamètres sont mesurés en millimètre (mm). Plus l'halo est grande, plus la souche est sensible. (Athamena et al., 2010 ; Djenadi, 2011 ; Djahra et al., 2013 ; Gauniyal et Teotia, 2014).

IV: Résultats et Discussion

IV.1. Rendement de l'extraction

Après calcul selon la formule donné en partie matériel et méthodes, le poids de résidu sec est équivalent à 18,33 g (tableau II).

Tableau II: Rendement d'extraction méthanolique d'*Eucalyptus globulus*.

Solvant	Poids initial de la prise d'essai (g)	Poids du résidu sec (g)	Rendement d'extraction (%)
Méthanol	30	18,33	61,1

D'après ce résultat, l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus globulus* a fourni un rendement élevé de 61.1 %. Un examen de la littérature indique que le méthanol est habituellement identifié comme un solvant efficace pour l'extraction des composés phénoliques en raison de sa propriété polaire et sa capacité de solubiliser et de récupérer des quantités optimales des composants actifs des plantes (Sultana et al., 2014), pour cela l'extrait méthanolique d'*E.globulus* possède un rendement important en libérant la plupart des métabolites secondaires (Mohamed et al., 2013)

IV.2. Résultats de l'identification

IV.2.1. Identification macroscopique et microscopique des souches isolées

L'aspect macroscopique et microscopique des souches isolées est représenté par les tableaux III, IV, V, VI et VII.

IV: Résultats et discussion

Tableau III : Aspect macroscopique des germes isolés sur gélose nutritive et PDA (Photo3 et 4 annex2).

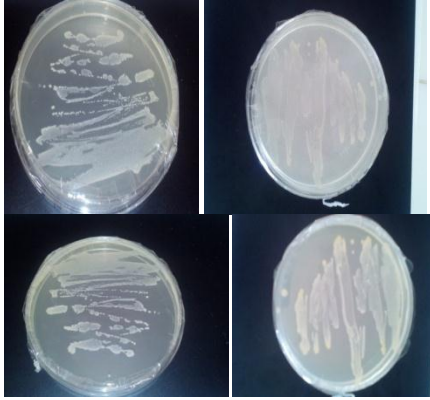
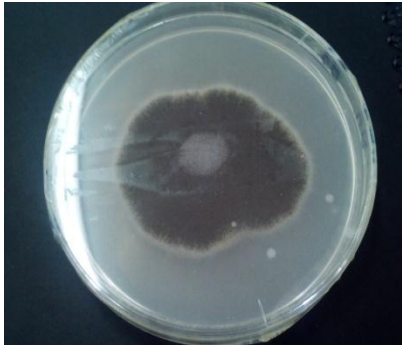
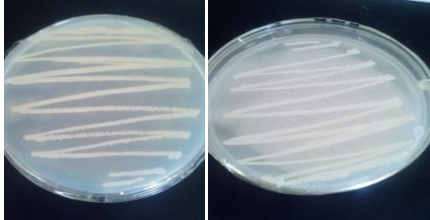
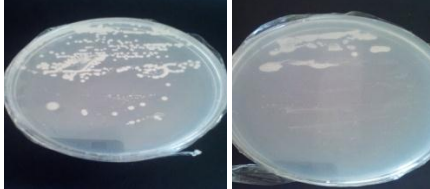
Observation macroscopique	Milieu d'isolement	Interprétation	N° de prélèvement
	Gélose Nutritive	Colonies sous forme d'un tapis de couleur blanche.	3, 4, 5,6
	PDA	Colonies sous forme d'un tapis noirs à fond verts	2
		Colonies isolées lisses de couleur crémeuse	5,6
		Colonies isolées de couleur crémeux bombé	1,4

Tableau IV : Aspect macroscopiques des colonies bactériennes isolées sur milieux sélectives (photo 5 et 6 annex2)

IV: Résultats et discussion


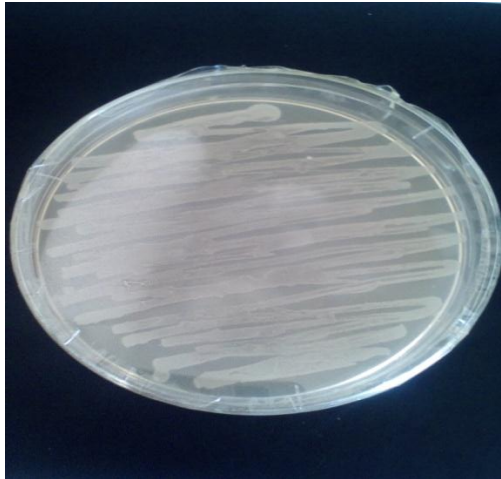
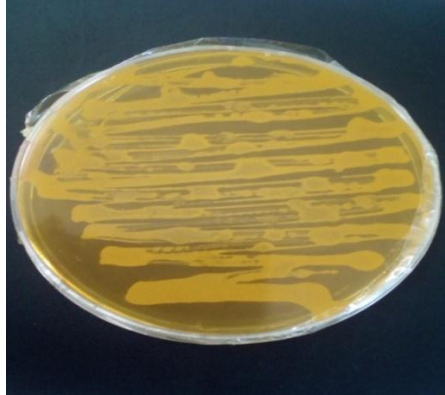
Observation macroscopique	Milieu d'isolement	Interprétation	N° de prélèvement
	Baird Parker	Colonies sous forme d'un tapis de couleur blanche.	1, 3, 4, 5, 6
	Columbia	Colonies sous forme d'un tapis de couleur crémeuse et brillante.	1, 3, 4, 5, 6

Tableau V : Aspect macroscopique des bactéries isolées sur milieu Baird-Parker après repiquage sur milieu Chapman (Photo7, annexe 2)

Observation macroscopique	Milieu d'isolement	Interprétation	N° de prélèvement
	Chapman	Des colonies pigmentées et entourées d'une auréole jaune	1, 3, 4, 5, 6

IV: Résultats et discussion

Tableau VI : Observation microscopique des souches fongiques(Grossissement×40)

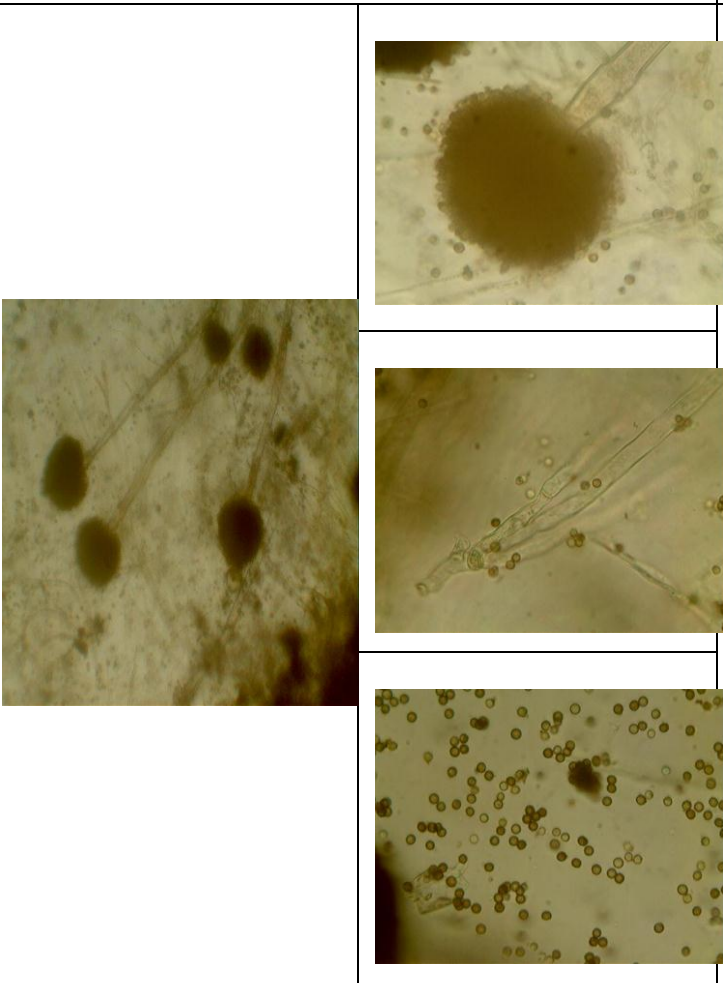


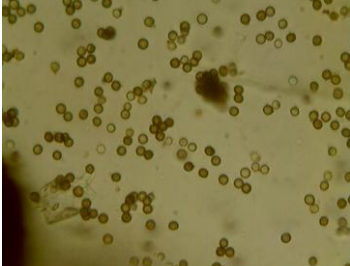
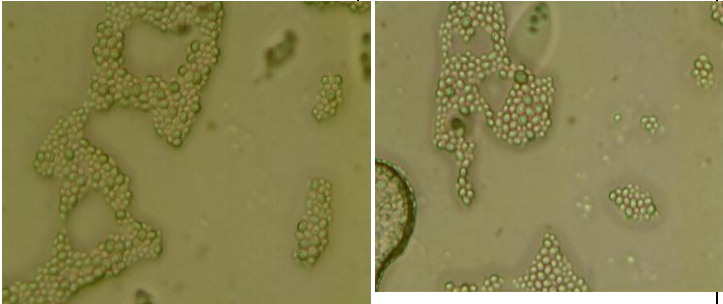
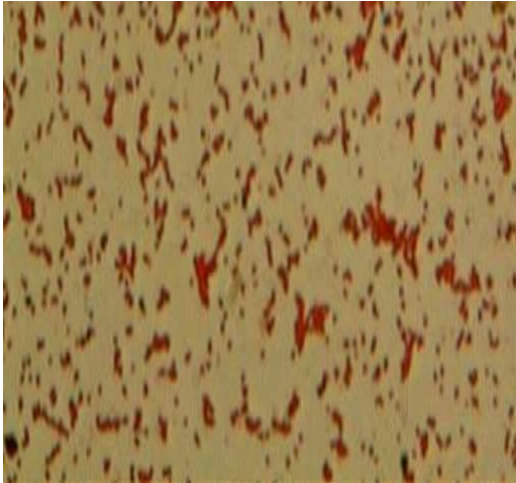
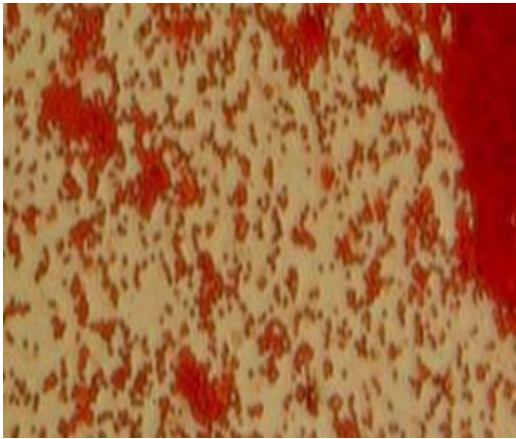
<i>Observation microscopique</i>		<i>Résultats</i>	<i>Germe</i>	<i>N° de prélèvement</i>
		Tête aspergillaire	<i>Aspergillus sp</i>	2
		<i>Mycélium septé</i>		
		<i>Conidies</i>		
	Cellules rondes à ovales	<i>Levure</i>	1, 4, 5,6,	

Tableau VII: les résultats de la coloration de Gram (Grossissement ×100)

Observation microscopique	Résultats de coloration de Gram	Bactérie	N° de prélèvements
	<p>Gram positif, cocci arrondies isolées en chainette</p>	<p>Streptocoque</p>	<p>3, 4, 5, 6</p>
	<p>Gram positif Cocci arrondies, regroupés en amas (Grappe de raisin)</p>	<p>Staphylocoque</p>	<p>3, 4, 5,6</p>

NB : La numérotation 1-6 signifie le numéro de prélèvements

IV.2.2. Identification biochimique

IV.2.2.1. Test de Catalase

Apparition des bulles d'air lors du contact de la bactérie avec l'eau oxygénée. La présence de ces bulles d'air confirme l'activité enzymatique de la bactérie *Staphylocoque sp* (photo8 ; annexe3).

IV.2.2.2. Test de Coagulase

Formation d'un coagulum donc la bactérie possède l'enzyme coagulase (photo 9, annexe 3).

A la lumière des résultats de ces deux tests on peut conclure qu'il s'agit catégoriquement de l'espèce *S.aureus*

Sur le plan bactériologique, les méthodes d'identification et de culture étaient des techniques conventionnelles.

Après la culture des échantillons, l'observation microscopique et les résultats du test catalase et coagulase, on peut conclure que nos prélèvements sont poly microbiens ; nous avons pu mettre en évidence la présence de deux bactéries à Gram positif : *Streptococcus sp* et *S.aureus* en plus deux genre de champignons *Aspergillus sp* et levures (En raison du manque de la galerie biochimique on a pas pu distinguer de qu'elle genre de levure s'agit-il) .Ces résultats sont confirmés avec les études de **Kurono et al., 1988** ; **Giebink et al., 1991** ; **Roland et Stroman, 2002** et **Vergison, 2008** qui ont montrés que la microbiologie des otites est dominée par les bactéries à Gram positif le plus souvent *S.aureus* et Streptocoques pyogenes.

D'autre part nos résultats s'accordent aussi avec les travaux de **Vennewald et Klemm, 2010** et **Roland et Stroman, 2002** qui ont montrés qu'*Aspergillus* et *Candida sp* sont les champignons les plus fréquemment isolés chez les patients souffrant d'otomycose.

IV.3. Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus*

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* sur les souches bactériennes et fongiques isolées à partir des différents prélèvements sous forme d'halos d'inhibition de la croissance microbiennes autour des disques sont représentés comme suit :

IV.3.1. Effet sur la bactérie *Streptococcus sp*

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus par l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* et le méthanol sur les streptocoques isolés sont présentés dans le tableau VIII (photo 10 et 11, annexe 4).

Tableau VIII : Diamètres des zones d'inhibitions en mm obtenues par l'extrait méthanolique d'*E.globulus* et le méthanol sur *Streptococcus sp*

Bactéries	Extrait méthanolique <i>E.globulus</i>	Méthanol (80%)
Streptocoque 1	26.67±1.42	0
Streptocoque 3	28.33 ± 2.35	0

IV: Résultats et discussion

Streptocoque 4	26.67 ± 1.70	0
Streptocoque 5	23.33 ± 4.71	0
Streptocoque 6	0	0

D'après le tableau VIII, l'extrait méthanolique d'*E.globulus* exerce son activité inhibitrice sur toutes les souches des Streptocoques à l'exception de la souche Streptocoques 6 où on n'a identifié aucune zone d'inhibition (0 mm).

En ce qui concerne l'activité antibactérienne du méthanol, aucune activité n'a été remarquée sur les souches de streptocoques .

IV.3.2. Effet sur l'espèce *Staphylococcus aureus*

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus par l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* et le méthanol sur *S.aureus* isolés sont présentés dans le tableau IX (photo 12 et 13, annexe4).

Tableau IX : Diamètres des zones d'inhibition obtenus par l'extrait méthanolique d'*E.globulus* et le méthanol sur *S.aureus* .

Bactéries	Extrait méthanolique <i>E.globulus</i>	Méthanol (80%)
<i>S.aureus</i> 1	19,33 ± 0.95	0
<i>S.aureus</i> 3	29 ± 1.42	0
<i>S.aureus</i> 4	28 ± 1.64	0
<i>S.aureus</i> 5	35 ± 7.07	0
<i>S.aureus</i> 6	29 ± 7.25	0

Selon le tableau IX les *S.aureus* montrent une hypersensibilité caractérisée par des larges diamètres des zones d'inhibition par rapport à celle des souches des streptocoques mais aucune sensibilité vis-à-vis du méthanol. Donc on peut conclure que les deux souches sont sensibles vis-à-vis de l'extrait méthanolique .

IV.3. 3. Effet sur les levures

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus par l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* et le méthanol sur les levures sont présentés dans le tableau X (photo 14, annexe 5).

Tableau X : Diamètres des zones d'inhibitions obtenues par l'extrait méthanolique d'*E. globulus* et le méthanol sur les levures.

Levures	Extrait méthanolique <i>E. globulus</i>	Méthanol (80%)
Levure 3	12,66 ±1, 69	0
Levure 4	14,33 ± 2,05	0
Levure 5	11 ± 0,81	0
Levure 6	10,33 ± 2,49	0

Selon le tableau X les levures montrent une sensibilité caractérisée par des faibles diamètres des zones d'inhibition par rapport à celle des souches des streptocoques et staphylocoques mais aucune sensibilité vis-à-vis du méthanol. Donc on peut conclure que les levures sont moins sensibles vis-à-vis de l'extrait méthanolique par rapport aux *S. aureus* et les streptocoques.

IV.3. 4. Effet sur *Aspergillus sp*

Tableau XI : Diamètres des zones d'inhibitions obtenus par l'extrait méthanolique d'*E. globulus* et le méthanol sur *Aspergillus sp.*(photo15,annexe 5)

Champignon	Extrait méthanolique <i>E. globulus</i>	Méthanol (80%)
<i>Aspergillus 1</i>	0	0

D'après le tableau XI l'extrait méthanolique d'*E. globulus* n'a aucune activité inhibitrice sur *Aspergillus sp* de même que pour le méthanol.

Beaucoup de recherche ont montré l'action effectrice d'extrait des plantes contre différentes bactéries et champignons pathogènes (**RifaqatAmmer et al., 2016**).

D'après les résultats obtenus dans notre travail ; il apparait nettement que l'extrait méthanolique d'*E.globulus* montre une action inhibitrice plus importante sur la croissance des Staphylocoques et les Streptocoques par rapport à celle des levures tandis qu'il n'a aucune activité inhibitrice sur les souches d'*Aspergillus*. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Jafad et Afeteh, 2010** et **Valéria et al., 2015** qui ont montré que l'extrait méthanolique d'Eucalyptus inhibe la croissance des souches à Gram positif essentiellement *S.aures* avec un moins degré d'action sur *Candida albicans*.

Habituellement les bactéries a Gram(+) sont plus sensibles aux composants naturelles et autres substances antimicrobiennes par rapport aux bactéries a Gram(-) et aux champignons (**Dabbah et al., 1970**). Ceci est expliqué par la richesse des bactéries à Gram(+) en protéine alors que les bactéries à Gram(-) sont surtout assemblées en Lipopolysaccharide (**Palombo et Semple, 2001**) de plus cette sensibilité peut être due aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, la nature de l'extrait, et due aussi à l'absence de la membrane externe (**Athamena et al., 2010**).

D'après **Cox, 2000** ; **Giordani et Kaloustian, 2006** les composés terpéniques d'*E.globulus* et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure.

Durant l'étude réalisée par **Freeman et Carel, 2006**, il a été signalé que les groupes moléculaires avec les plus puissantes actions antibactériennes sont également des antifongiques efficaces, mais ils doivent être utilisés sur de plus longues périodes.

Selon **Oshomoh et al., 2015** la variation observés des zones d'inhibition est due soit à la différence dans la composition en molécule bioactif dans l'extrait ou a leur mécanisme d'action sur les germes.

Grâce à l'action des composants phyto-chimique: tannins, huiles volatiles les phénols 1-8cineol, l'extrait méthanolique d'*E.globulus* exerce son action inhibitrice sur les microorganismes testés de façon variable contre un large gamme de microorganismes(**Bahadar et al., 2016** ; **Takahashi et al., 2004** ; **Ayepola et Adeniyi, 2008**) .

Les composants phytochimiques d'*E.globulus* sont capables de se fixer sur certaines protéines et enzymes en modifiant l'équilibre enzymatique, parfois même la destruction de certains systèmes enzymatiques incluant ceux qui participent dans la production d'énergie cellulaire et la production des composés structuraux. (**Gordon et al., 1973** ; **Ayepola et Adeniyi, 2008** ; **Joseph et Sugatha, 2011**).

(Mahmoud *et al.*, 2004 ; Guesmi et Boudabous, 2006) quant à eux, ont avancé l'hypothèse d'inactivation et destruction du matériel génétique et, enfin Caillet *et al.*, 2007 ont signalé que les composants phytochimiques empêchent la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines

Dans ce même contexte, les huiles essentielles, les flavonoïdes et les polyphénols peuvent perturber la perméabilité de la membrane cellulaire tout en provoquant des fuites d'ions potassium (K^+) au niveau des membranes cellulaires des germes et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium a un effet précurseur de leur mort (Freeman et Carel, 2006 ; Ayepola et Adeniyi, 2008 ; Joseph et Sugatha, 2011 ; El-Haci *et al.*, 2012).

En outre, il a été montré que le mécanisme de toxicité des flavonoïdes vis-à-vis des microorganismes se fait soit par privation des ions métalliques tels que le fer, soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires des micro-organismes (les adhésines) ou encore les enzymes (Basli *et al.*, 2012).

Conclusion

Conclusion

A l'origine, la nature constituée d'êtres végétaux, servait d'alimentation aux animaux et aux êtres vivants peuplant la terre. Mais à côté de cette fonction nutritionnelle, l'homme découvrit bien d'autres fonctions que pouvaient lui procurer les plantes, notamment le pouvoir de guérison, ces plantes qui ont servi depuis l'antiquité et certainement bien avant de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'homme personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique.

En effet cette faculté de guérison des plante est deviendra plus tard la médecine traditionnelle avec toutes les avancées notoires qu'on peut lui attribuer.

Dans notre travail, on s'est intéressé à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique d'Eucalyptus et d'étudier leur effet sur la croissance de différentes souches microbiennes isolées à partir des otites.

Dans ce contexte, l'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques. De cette étude, il ressort que la macération par le méthanol est une meilleure technique d'extraction des polyphénols totaux.

L'étude des propriétés antimicrobiennes de l'extrait méthanolique d'*E.globulus* nous a permis d'obtenir des résultats intéressants. D'ailleurs les résultats de l'activité antibactériennes ont révélé une efficacité importante de l'extrait sur les souches testées *Streptococcus sp* et *S.aureus* où on a enregistré des zones d'inhibition de 20 à 30 et de 18 à 40 mm respectivement, plus d'une activité moins importante sur les souches fongiques à l'exception d'*Aspergillus sp* qui apparaît résistant à l'action de l'extrait.

D'une façon générale, les résultats obtenus indiquent que l'*E.globulus* a une activité antibactérienne importante sur les bactéries à Gram positif par rapport à l'activité antifongique.

En perspective, des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier les constituants bioactives d'Eucalyptus et de les impliquer dans la thérapie des otites.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

A

Agrawal A., Timothy F., Murphy. (2011). *Haemophilus influenzae* Infections in the *H. influenzae* Type b Conjugate Vaccine Era. *Journal of clinical Microbiology*.49(11): 3728–3732.

Ait Abdelouahab N., (2008). Microbiologie alimentaire. 1ier Edition. Office des publications universitaires, Alger, p 18-19..

Allalou D., Remini H., Adjaoud A., Boulekbache-Makhlouf L. (2015). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Elsevier. Industrial Crops and Products* Vol. 78, Pages 148–153.

AlonsoDeVelasco E., Verheul A F., Verhoef J., et Snippe H. (1995). *Streptococcus pneumoniae*: virulence factors, pathogenesis, and vaccines. *Microbiological Reviews*.59(4): 591–603.

Amit K T., Anushree M., (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against foods spoilage microorganisms. *Food Chemistry*, 126 (1): 228-235.

Aneja K R., Joshi R. (2010). Antimicrobial activity of *Syzygium aromaticum* and its bud oil against dental cares causing microorganisms. *Ethno botanical Leaflets*, 14, 960-975.

Athamena S., Chalghe I., Kassah-Laouar A., Laroui S., Khebri S. (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11(1), 69-81.

Ayache D., Bonflis P. (2006). ORL.4^e édition. Med-line Édition

Ayepola O O., Adeniyi BA. (2008). The Antibacterial Activity of Leaf Extracts of *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae). *Journal of Applied Sciences Research*, 4(11): 1410–1413, 2008.

B

Baba Aïssa F. (1990). Les plantes médicinales en Algérie.P 67.

Baculard F. (2007). Épidémiologie de l'otite moyenne aiguë et de ses complications chez l'enfant. vol.10, n° 3. Page 154-157.

Bahadar K., Anjum M., Asad S. (2016). Biological properties of Eucalyptus Lsp. Extracts against microbial pathogens: An updated review. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)* Vol. 9, No. 5, p. 72-85, 2016 .

Barry B. (2005). Pathologie infectieuse. Facteurs infectieux et non infectieux des otites et des sinusites. Elsevier Masson France. Antibiotiques ; 7 : 219-223.

Basli A., Chibane M., Madani K., Oukil N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénolsextraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*,10(1), 2-9.

Belkou H., Beyoud F., Bahmed T Z. (2005). Approche de la composition biochimique de la menthe verte (*Mentha spicata* L) dans la région de Ouargla, mémoire DES, Université de Ouargla. P 261

Beloued A. (2005). Plantes médicinales d'Algérie. Office des Publications Universitaires Algiers, 3^e Édition P.88

Bennet J W. (2009). *Aspergillus* : à primer for the novice. *Journal medical mycology* vol.47.P S5-S12.

Berche P., Gaillard JL., Simonet M., (1991). Les bactéries des infections humaines. Editeur Flammarion, Médecine et Sciences, p660.

Boulekbache-Makhlouf L., Meudec E., Chibane M., Mazauric J P., Slimani S., Henry M., Cheynier V., Khodir M. (2010). Analysis by High-Performance Liquid Chromatography Diode Array Detection Mass Spectrometry of Phenolic Compounds in Fruit of *Eucalyptus globulus* Cultivated in Algeria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (24), p 12615–12624.

Bousseboua H., (2002). Élément de microbiologie générale. Édition de l'université de Mantouri, Constantine. P: 202-203.

Références bibliographiques

Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni M M, (2008).Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*, *Société Chimique de Tunisie*, p. 119 – 125.

Botton B., Bretton A., Fevre M., Guathier S., Guy P H., Larpent J P., Reymound P., Sanglier J J., Vayssier Y ., Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles - 2^e édition - Importance industrielle. Masson. P426.

C

Caillet S., Lacroix M. (2007). Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, Université de Laval (Québec).

Charles PS Hui et Société canadienne de pédiatrie, comité des maladies infectieuses et d'immunisation. (2013). L'otite externe aiguë. *Journal of pediatrics and child health* 18(2): 99–101.

Chebaibi A., Filali F R., Amine A., Zerhouni M. (2011). Effet bactéricide (in vitro) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (*Punicagranatum L.*) sur des bactéries multi résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 9(3), 158-164.

Chemli R., Harzallah-Skhiri F., Khouja ML. (2012). Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BMCComplementAltern Med.* 12:81.

Cheurfa M., Allem R., Sebahia M., Belhireche S., (2013). Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytothérapie*, 11(3), 154-160.

Choi Y M., Noh D O., Cho S Y., Suh H J., Kim K M., Kim J M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis froms ever al regions of Korea. *LWT*, 39:756-761.

Cox S D., Mann C M., Markham J L. (2000). The m ode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (teatreeoil). *J ApplMicrobiol.* 88, 170-175.

Références bibliographiques

D

Dabbah R., Edwards V M., Moats W A. (1970). Antimicrobial action of some citrus fruit oils on selected food-borne bacteria. *Applied Microbiology*. 19, 27-31.

Debry C., Mondain M., Reyt E. (2011). ORL-Connaisances. Collège français d'ORL et de chirurgie cervico-faciale. Elsevier Masson. P57.

Diabate S., Konan K E., Allou D., Coulibaly O A., Franquville H. (2009). Performance de deux techniques d'extraction des phénols racinaires pour l'évaluation du marquage de la tolérance à la fusariose des clones de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Sciences & Nature*, 6(2). 117-123.

Diallo A M. (2005). Etude des plantes médicinales de Niafunke (région Tombouctou) Phytochimie et pharmacologie de *Maerua crassifolia* Forsk. (Capparidacée). Thèse de Doctorat. Université de Bamako. 125p.

Djahra A B., Bordjiba O., Benkherara S. (2013). Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie*, 11(6), 348-352.

Djenadi F. (2011). Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne du genévrier (*Juniperus phoenicea*): essai des huiles essentielles et composés phénoliques.

E

El Haci I A., Atik-Bekkara F., Didi A., Gherib M., Didi M A. (2012). Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*, 10(5), 280-285.

Elaissi A., Rouis Z., Salem N A., Mabrouk S., Ben Salem Y., Salah K B., Aouni M., Farhat F., Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BMC complementary and alternative medicine*. 12:8.

/

F

Fabre M C., Genin A., Merigioux J., Moget E. (1992). Herboristerie familiale.P 53.

Fischer J., Dethlefsen U. (2013). Efficacy of cineole in patients suffering from acute bronchitis: a placebo-controlled double-blind trial. *BioMed Central* ;9: 25.

Foster .Timothy J. (2004). The *Staphylococcus aureus* “superbug”. *The journal of Clinical investigation* ; 114(12) :1693-1696.

Furano F., Luke N R., Howlett A J ., Campagnari A A. (2005). Identification of a conserved *Moraxella catarrhalis* haemoglobin-utilization protein, MhuA. *Microbiology* 151: 1151-1158.

Franklin D., Lowy M D. (1998). *Staphylococcus aureus* Infections. *The New England Journal of Medicine*.339:520-532.

Freeman L., Carel Y. (2006). Aromathérapie. *NUTRA NEWS* Science, Nutrition, Prévention et Santé.

G

Giebink G S., Canafax G S.(1991).Antimicrobial treatments of otitis media.Seminars in respiratory infection .6 :85-93.

Giordani R., Kaloustian J. (2006). Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. *Phytotherapie*. 3,121-124.

Goetz P., Ghédira K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse.Springer.France.paris p272.

Gordon R E., Haynes W C., Pang C H N. (1973). The genus Bacillus. Agriculture Hand book. N° 427, ARS-USDA, Washington (USA).

Guesmi A., Boudabous A. (2006). Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les produits de thalassothérapie- les Plantes à Parfum, aromatiques et médicinales. Faculté des Sciences de Tunis, Université Tunis - El Manar, 2092, Tunis.

Gauniyal P., Teotia U V S. (2014). Phytochemical screening and antimicrobial activity of some medicinal plants against oral flora. *AsianPac J HealthSci*, 1(3), 255-63.

Références bibliographiques

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

Gilles M., Zhao J., Min A., Agboola S. (2010). Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species :*FoodChemistry*. 119(2), P 731–737.

Grouzard V., Rigal J., Sutton M. (2016). Edition 2016. Guide clinique et thérapeutique. Médecins Sans Frontières. P62.

H

Haddad M., Zein S., Shahrour H., Hamadeh k., Karaki.N., Kanaan H. (2017).

Antioxidant activity of water-soluble polysaccharide extracted from *Eucalyptus* cultivated in Lebanon. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 7(2), P 157–160.

Hamedelnil Y F., Alharith Z A A., Ahmed-Abakur E H. (2013). Isolation, Identification and Susceptibility Patterns of *Moraxella Catarrhalis* among Children with Otitis Media in Khartoum State. *Journal of Microbiology Research* 3(2): 79-82

Harkat-Madouria L., Boudria A., Madani K., Bey-Ould Si Said Z., Rigou P., Grenier D., Grenier D., Allaloua H., Reminia H., Adjaouda A., Boulekbache-Makhlouf L. (2015). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Industrial Crops and Products* : 78.148-153

Hays, J. P. (2009). *Moraxella catarrhalis*: A mini review. *Journal of Pediatric Infectious Diseases*.4 (3): 211-220.

Herchi W., Sebei K., Sakouhi F., Khouja M L., Boukhchina S. (2015). Chemical composition and antibacterial activities of seven *Eucalyptus* species essential oils leaves. *Biological research*.48(1): 7.

J

Javad S G., Atefeh Aa .(2010). Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*. *Pharmacognosy magazine*. 6(23): 172–175.

Jevitz-Patterson M J. (1996). *Medical Microbiology*, Chapter14. 4th edition. Bookshelf. NCBI.

Joseph B., Sujatha S. (2011). Bioactive compounds and its autochthonous microbial activities of extract and clove oil (*Syzygium aromaticum* L.) on some food borne pathogens. *Asian Journal of Biological Sciences*, 4, 35-43.

Juergens Ur., Dethlefsen U. (2003). Anti-inflammatory activity of a 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double blind placebo controlled trial. *Respiratory Medicine*. 97: 250, 256.

K

Kablan B J., Adiko M., Abrogoua D P. (2008). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire. *Phytothérapie*, 6(5), 282-288.

Karou D., Dicko M. H., Simpore J., Traore A S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, 4(8), 823-828.

King P. (2012). *Haemophilus influenzae* and the lung (*Haemophilus* and the lung). *Clinical and Translational Medicine*. 1: 10.

Krishnaiah D., Bono A Sarbatly., Anisuzzaman R S M. (2012). Antioxidant activity and total phenolic content of an isolated *Morinda citrifolia* L. methanolic extract from Polyethersulphone (PES) membrane separator. *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*. P 63-67.

Références bibliographiques

Kuete V., Dongfack M D., Mbaveng A T., Lallemand M C., Van-Dufat H T., Wansi J D., Wandji J. (2010). Antimicrobial activity of the methanol extract and compounds from the stem bark of *Drypetes tessmanniana*. Chinese journal of integrative medicine, 16(4), 337-343.

Kurz.Jamez E. (2011). Médecine interne de Nitter. SECTION II: Affections du tractus respiratoire supérieur et de l'oropharynx.ScienceDirect. Elsevier masson.P 81.

L

La M J., Loukou Y., Guede-Guina F. (2008). Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides*(Baker) milne-redheat (*Rubiaceae*) sur la croissance in vitro des souches d'*Escherichia coli*. Bulletin de la société royale des sciences de Liège.77, 44-61.

Leger-Boucher D. (1996). Anatomie et physiologie.P 189.

Lepère J F. (2004). Les otites externes de plongeur. Ronde de Médecine de Plongée de l'Océan Indien.

Lescanne E., Lanotte P., Pondaven S., Autret-Leca E. (2006). Otites moyennes aiguës. Elsevier Masson SAS.

Luís A., Duarte A., Gominho J., Domingues F., Duarte A P. (2016). Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. Industrial Crops and Products.10-055.

M

Mahmoud B S M., Yamazaki K., Miyashita K., Il-shikS., Dong-sukC., Suzuki T. (2004). Bacterial microflora of carp(*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. Food Microbiology. 21, 657-666.

Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N. (2012). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature and Technology*, 9, 35.-45.

Marchal F. (2013).ORL.RevueMedicaleSuisse.15 ; 10(412-413) : 93-4 ,96- 100 .P119-124.

Melançon F. (2008). Petit guide de l'otite moyenne aiguë.Défi-diagnostic.Le clinicien. P 2 .

Références bibliographiques

Mentouri A., Djerribi R., Tahar A., Sid R. (2013). Curetage Dentinaire: Comparaison in vitro De l'efficacité de deux Methodes D'éviction de dentine infectée. *Sciences and Technologie C Sciences de la Nature et de la Vie* .37, 4248.

Mohamed A A., Ali S I., El-Baz F K. (2013). Antioxidant and antibacterial activities of crude extracts and essential oils of *Syzygium cumini* leaves. *Plos one*, 8(4), 60-69.

Mudry A. (2009). Maladies de l'oreille(Otalgie).

Mutuelle.R(2015). Les symptomes de l'otite.Encyclopedie medicale.

N

Nauciel C., Vildé J L. (2005). Bactériologie médicale, 2ième édition. Masson. Paris : p 389.

Nicollas.N , Trigia.J M.(2002). Les otites aiguës.

O

Oshomoh E O., Idu M., Udinyiwe O C. (2015). Phytochemical Screening and Antimicrobial Sensitivity of Clove Flower (*Syzygium aromaticum*, L. Merrill and Perry) Bud on Dental Pathogens.*International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*. 3(2), 1-12.

P

Palombo E A., Semple, S J. (2001).Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 77(2), 151e157.

Pierre.Michel,Lys Michel.(2012).Secret des plantes pour se soigner naturellement.P 133.

Prajapati R. A., Raol B. V. (2014).Characterization of microbial flora isolated from human teeth carious lesions. *Life Sciences Leaflets*, 47, 01-08.

R

Raho B G., Benali M. (2012). Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Elsevier. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(9).P 739-742.

Richard C., Juilland N., Vinckenbosch P. (2016). Otite moyenne aiguë et complications à court terme. *Revue Médicale Suisse* P 338-343.

Rifaqat Ammer M., Zaman S., Khalid M., Bilal M., Erum S., Huang D., Shengquan Che. (2016) .Optimization of antibacterial activity of *Eucalyptus tereticornis* leaf extracts against *Escherichia coli* through response surface methodology. *Journal of radiation research and applied sciences* 9) 376 -385.

Roland P S, Stroman DW. (2002). Microbiology of acute otitis externa. *Laryngoscope*. 112(7 Pt 1):1166-77.

Raho G Bachir., M Benali.(2012). Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Elsevier. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Volume 2, Issue 9. Pages 739-742.

S

Samson R A., Varga J. (2009). What is a species in *Aspergillus* ?. *Journal medical mycology*. P.S13..

Sanglier J J., Botton B, Bretton A, Fevre M., Guathier S., Guy PH ,Larpen J P., Reymond P., Vayssier Y., Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles - 2ème édition - Importance industrielle. Masson. P426

Sarlondie E. (2012). Prise en charge de la douleur de l'otite moyenne aiguë. P 61-63.

Sano N., Matsunaga S., Akiyama T., Nakashima Y., Kusaba K., Nagasawa Z., Koizumi S., Goto M., Miyamoto H (2009). *Moraxella catarrhalis* bacteraemia associated with prosthetic vascular graft infection. *Journal of Medical Microbiology* 59: 245-250.

Références bibliographiques

Schauenberg P., Paris F. (2008). Guide des plantes médicinales .Espagne :ISBN :978-2-603-01454-4 . p 295-296.

Sultana B., Anwar F., Mushtaq M., Aslam M., Ijaz S. (2015). In vitro antimutagenic, antioxidant activities and total phenolics of clove (*Syzygium aromaticum*L.) seed extracts. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 27(4), 893-899.

T

Tabak S., Bensoltane A. (2012). L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastro-duodénales. *Nature et technologie*, 06, 71-73.

Tadtong S., Kamkaen N., Watthanachaiyingcharoen R., Ruangrunsi N. (2015). Chemical Components of Four Essential Oils in Aromatherapy Recipe. *Natural product communications* 10(6):1091-2.

Takahashi T., Kokubo R., Sakaino M. (2004). Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculata*. *Letters in Applied Microbiology* , 39, 60–64.

Tesche S., Metternich F., Sonnemann U., Engelke J C., Dethlefsen U. (2008). The value of herbal medicines in the treatment of acute non purulent rhinosinusitis. results of a double-blind, randomised, controlled trial. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology - Springer* 1265 (11):1355-1359.

Treiner J. (2000). Extrait du Bulletin officiel n° 6, France. 39-143.

Tremblay C M. (2008). Otite externe et maux d'oreille douloureux. Santé.

Theoleyre B. (2012). Otolgie et otites de l'enfant. Elsevier Masson SAS. P 314-316.

Références bibliographiques

Tong S Y C., Davis JS., Eichenberger E., Holland T L., Fowler V G., Jr. (2015). *Staphylococcus aureus* Infections : Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clinical Microbiology Reviews*.

Thompson E R., Stewart., George R. (2016). Treatment of Primary Pulmonary Aspergillosis: An Assessment of the Evidence. *Journal of Fungi* 2016, 2(3), 25.

U

Uju D E., Obioma N P. (2011). Anticariogenic potentials of clove, tobacco and bitter kola. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 4(10), 814-818.

V

Valéria de S M., Ruth N T T., Vanessa de B P. (2015). Antimicrobial activity of *Eucalyptus globulus* oil, xylitol and papain: a pilot study .*RevEscEnferm USP* ·20; 49(2):215-219.

Vieille A., (2015). Huile essentielle *eucalyptus globulus* chine. Ed. Herbacée cinéolée

Vennewald I., Klemm E. (2010). Otomycosis : Diagnosis and treatment. *Clinics in dermatology*. 28(2):202-11.

Vergisson A. (2008). Microbiology of otitis media : amoving target. *Vaccine*. ScieneDirect. 26S.G5-G10.

Verweij P E., Brandt M E. (2007). *Aspergillus Fusarium* and other opportunistic monilia ceous fungi in P.R.Murray.P 1802-1838-S20.

W

Wassef M.(2009). Pathologie de l'oreille,Annales de pathologie.Elsevier Masson France 29,347-360.

Wainsten J P. (2012). Le larousse médical .P719

Y

Darouassi Y., Touati M M., Chihani M., Bouaity B., Haddou A. (2015). L'otite moyenne chronique cholestéatomateuse de l'enfant: à propos de 30 cas. The Pan African medical journal. 21:24

Z

Zhou L J., Li F R., Huang L J., Yang Z R., Yuan S., Bai L H. (2016). Antifungal Activity of Eucalyptus Oil against Rice Blast Fungi and the Possible Mechanism of Gene Expression Pattern.NCBI.Molecules.12;21(5).

Zrira S. (1992). Les huiles essentielles d'Eucalyptus du Maroc. Facteurs influençant la productivité et la qualité de ces essences. Investigation sur les possibilités d'exploitation d'*E.camaldulensis* pour la production d'huile essentielle d'*Eucalyptus* à cinéole. Thèse de Doctorat Univ. Hassan II-Rabat, Maroc.

Les sites

Aresub.pagespersoorange.fr/medecinesubaquatique/medecineplongee/cipatho/coorl/otite_sexternes.htm.

<https://www.oreillemudry.ch/l'otite-interne-ou-labyrinthite/>.

WWW.radarmutuelle.fr/infos/encyclopedie-medicale/les-symptomes-de-lotite/.

Annexes

Annexe 1: Préparation des milieux de culture

1. Préparation de la gélose PDA

1.1. Constituants pour 1 litre

- 200g de pomme de terre
- 20g d'agar
- 20g de glucose

1.2. Préparation

Laver et couper en petits cubes 200g de pomme de terre, les mettre dans 1 litre d'eau distillée et porter à ébullition pendant 30mins sur une plaque chauffante.

Ecraser la pomme de terre puis les filtrer dans un bécher à l'aide d'une compresse stérile. Ajouter de l'eau distillée au filtrat jusqu'à l'obtention d'un volume final d'un litre, puis mettre le tout sur une plaque chauffante avec faible agitation et ajouter graduellement 20g de glucose et 20g d'agar. Le pH du milieu était ajusté à 6.5 et la stérilisation effectuée à l'autoclave à 120°C pendant 20mins (Botton et al., 1990).

2. Préparation de la gélose nutritive

2.1. Constituants pour 1 litre

- 1g d'extrait de viande
- 2,5g d'extrait de levure
- 5g de Peptone
- 5g de chlorure de sodium
- 15g d'agar

2.2. Préparation

Prélever 1g d'extrait de viande, 2.5 g d'extrait de levures, 5g de peptone, 5g de l'Na Cl et les poser dans un bécher. Ajouter l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un volume final d'un litre puis mettre le tout sur une plaque chauffante avec faible agitation et ajouter graduellement 15g d'agar. Le pH du milieu était ajusté à 7 et la stérilisation effectuée à l'autoclave à 120°C.

3. Préparation du bouillon nutritif

3.1. Constituants pour 1 l

- 5.2 g de Peptone

- 3.2 g d'extrait de viande

3.2. Préparation

Dans un bécher mettre 5.2 g de peptone et 3.2 g d'extrait de viande ajouter l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un volume final de 1 litre puis mettre le tout sur une plaque chauffante avec faible agitation. Le pH du milieu était ajusté à 7 et la stérilisation à l'autoclave.

Annexe 2 : Extrait méthanolique d'*E.globulus*, prélèvements microbiologiques, et culture des germes sur les milieux GN, PDA, Baird-Parker, Columbia et Chapman.



Photo 1: l'extrait brut d'*Eucalyptus globulus*



Photo 2: les six prélèvements à partir des otites

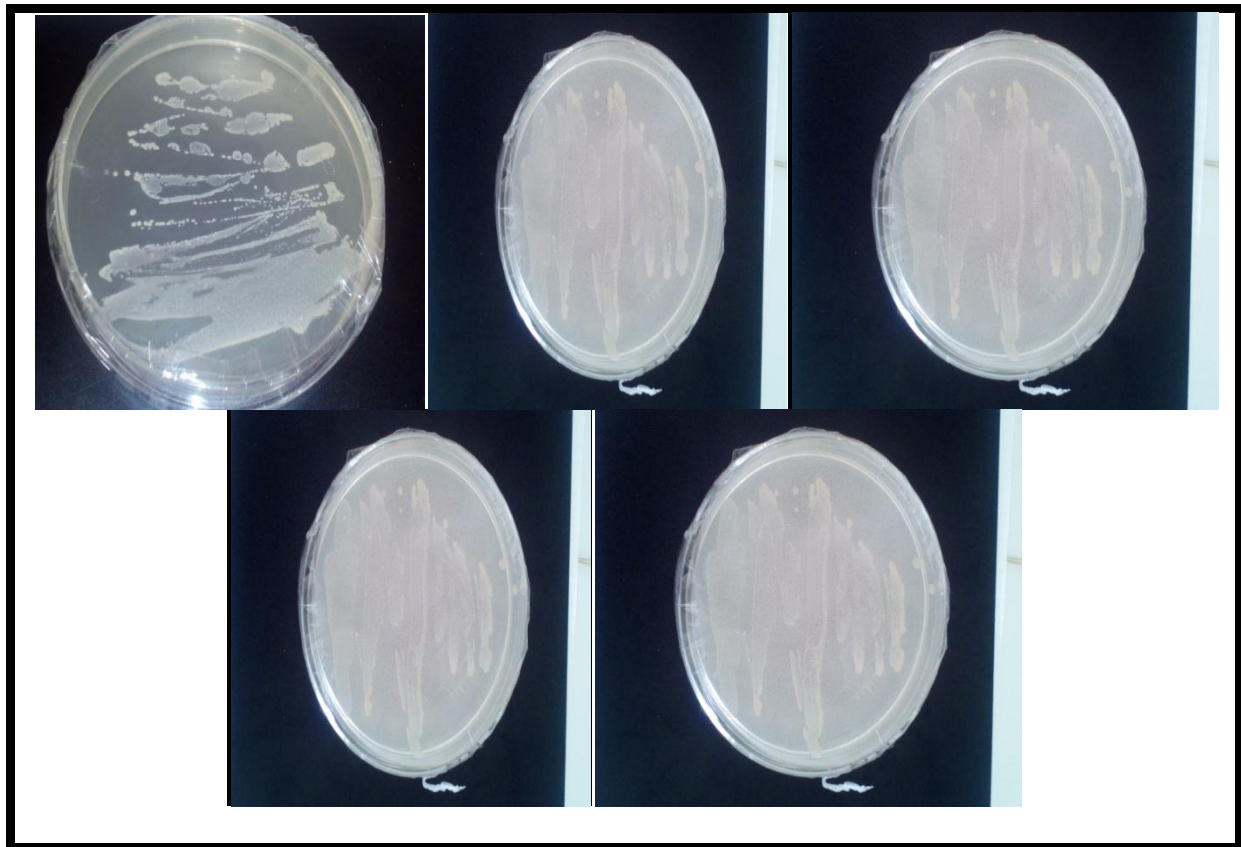


Photo 3 : la culture des germes isolés sur la GN

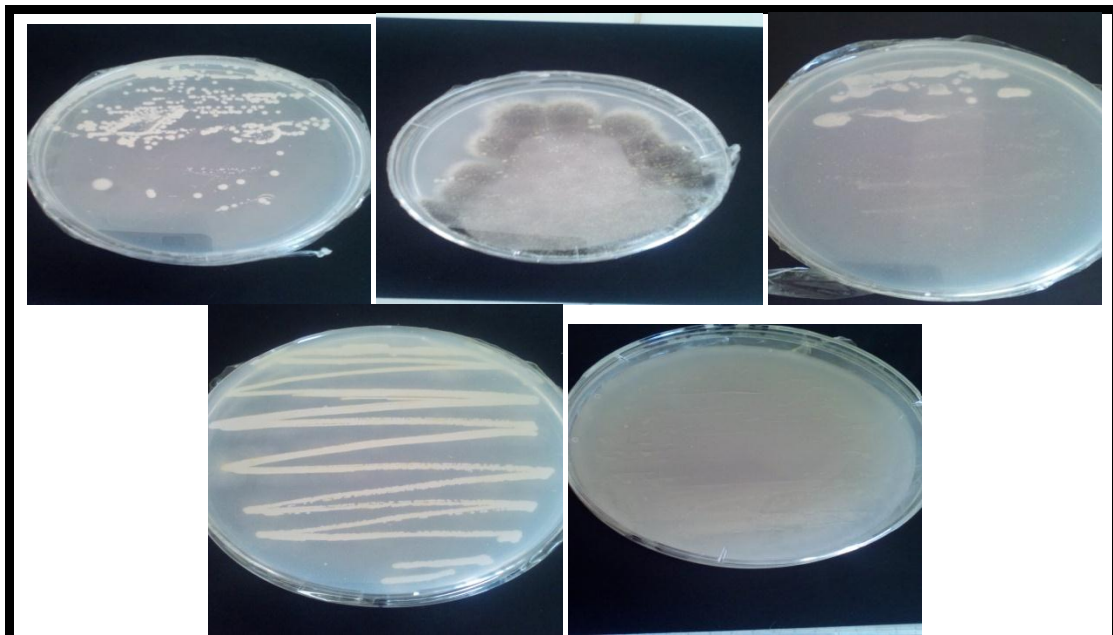


Photo4 : la culture des germes isolés sur PDA à partir du prélèvement 1,2, 4, 5,6

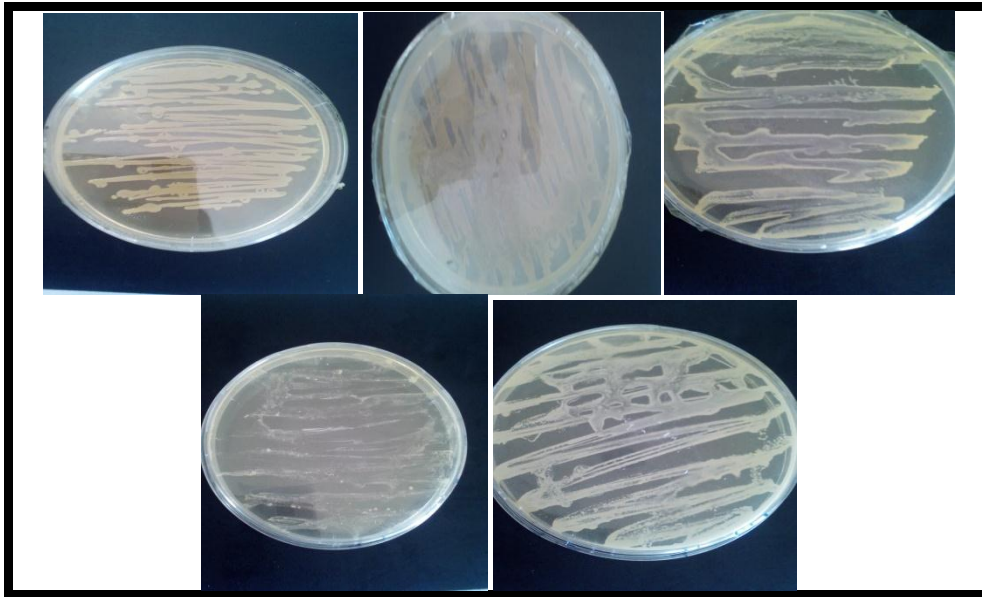


Photo 5: Les cultures des souches de Staphylocoques sur la gélose Baird Parker à partir des prélèvements 1, 3, 4, 5, 6.

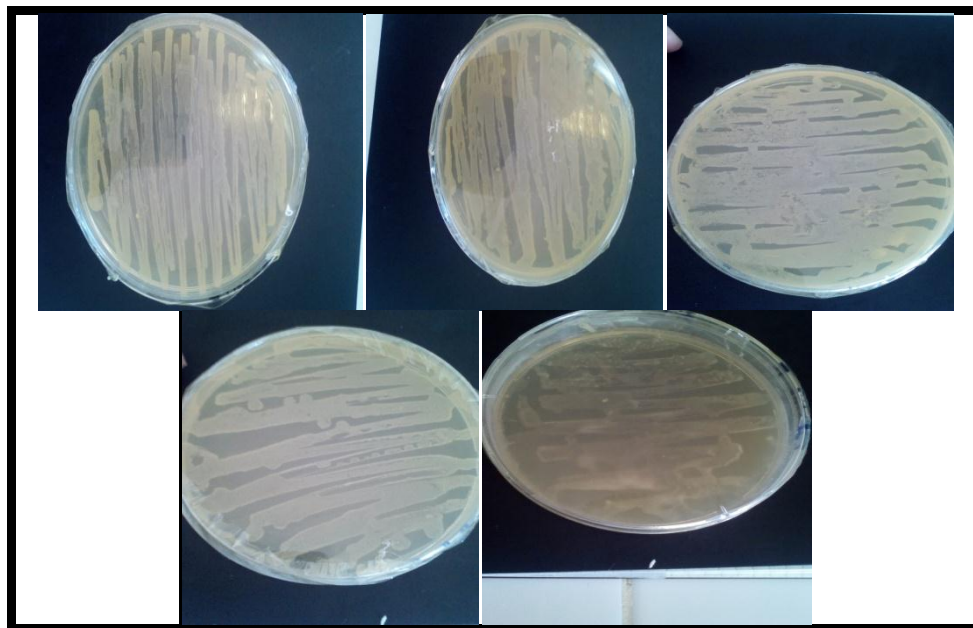


Photo 6: Les cultures des souches de Streptocoques sur gélose Columbia à partir des prélèvements 1, 3, 4, 5, 6.

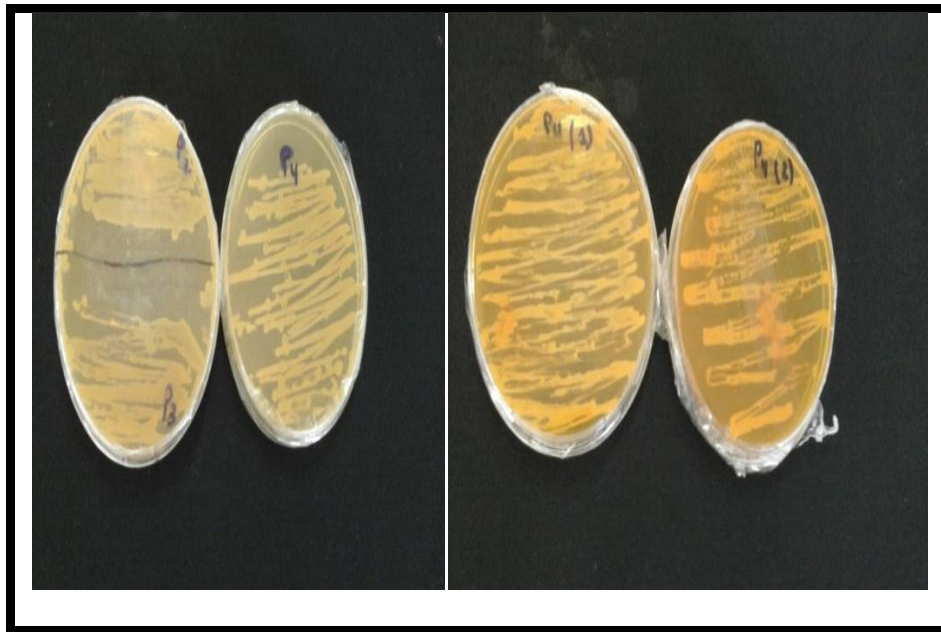


Photo 7: repiquage des souches de Staphylocoques sur Chapman

Annexe 3 : Résultats des tests biochimiques



Photo 8 : test de catalase pour les souches de Staphylocoques



Photo 9 : test de coagulase pour les souches de Staphylocoques

Annexe 4 : l'activité de l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* et de méthanol sur les staphylocoques.

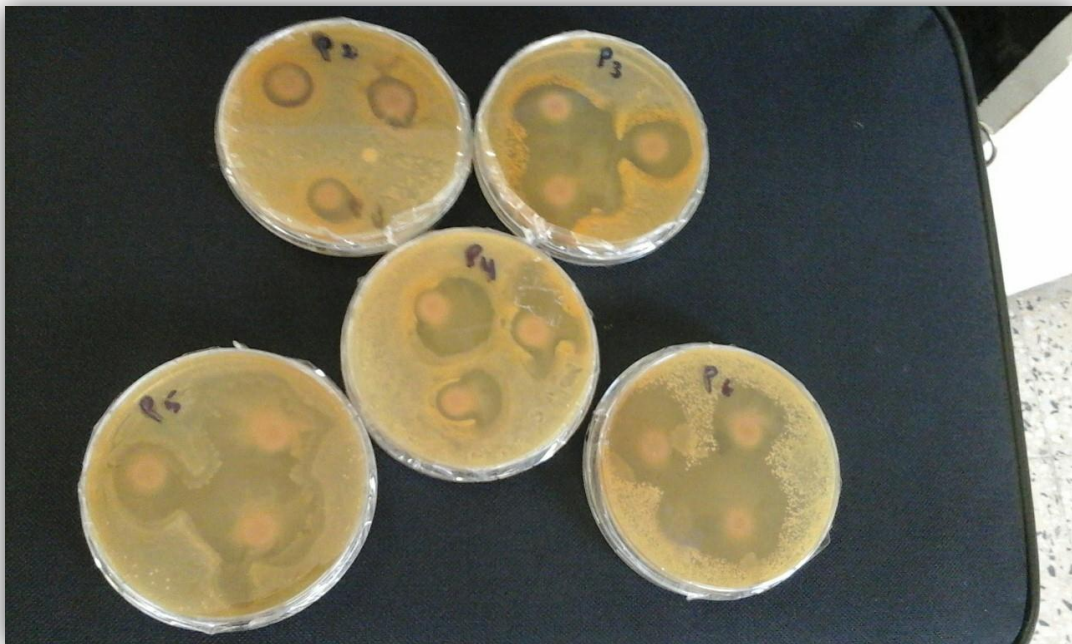


Photo 10 : l'activité de l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* sur les *S.aureus* à partir des prélèvements 1, 3, 4, 5, 6

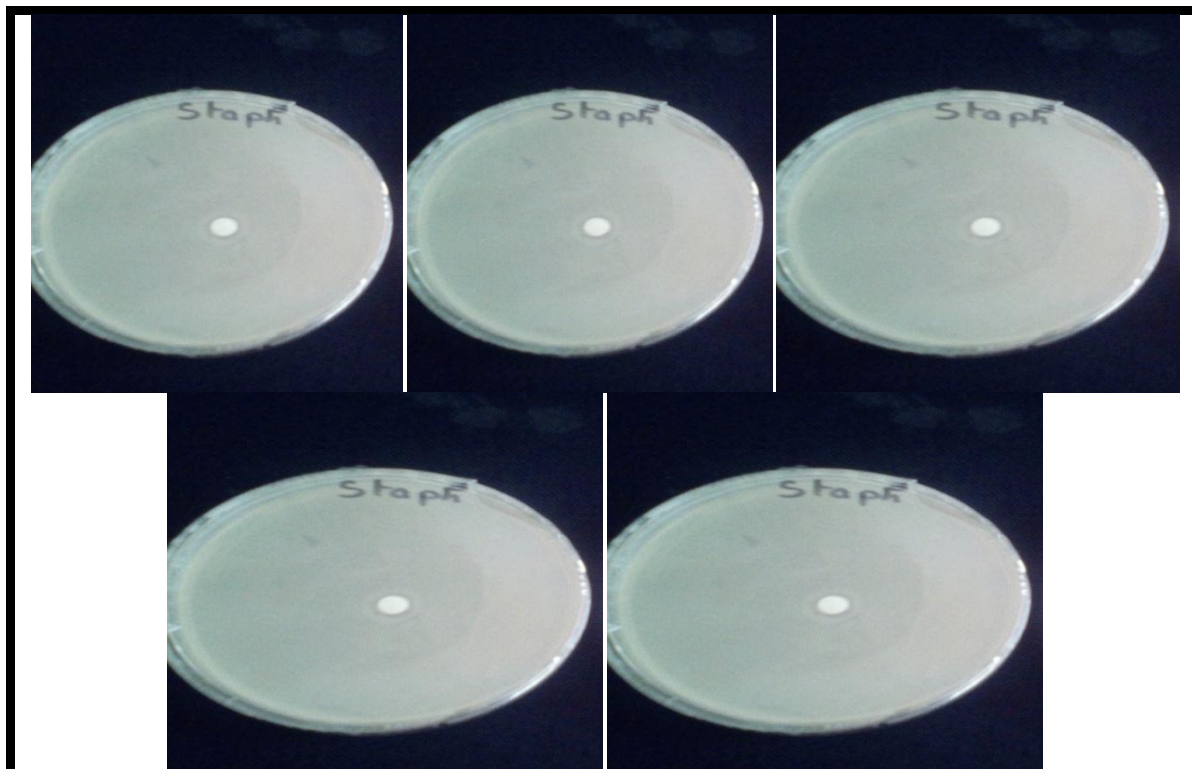


Photo 11 : test de l'activité du méthanol sur les *S.aureus*

Annexe 4 : l'activité de l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* et de méthanol sur les streptocoques.



Photo 12 : l'activité de l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* sur les souches de streptocoques.

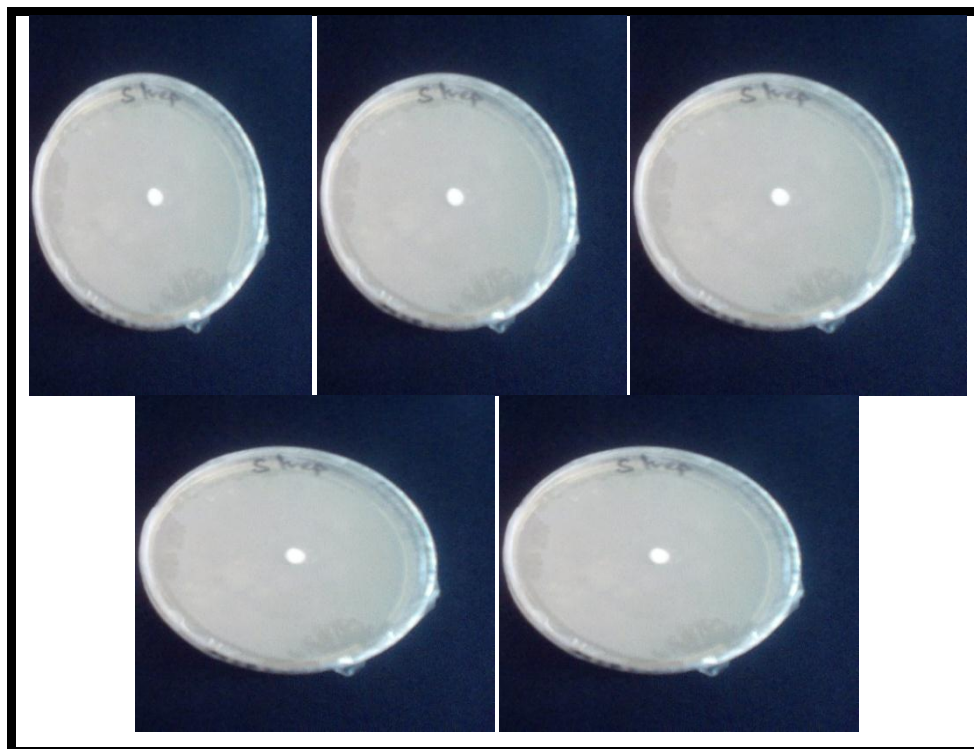


Photo 13 : test de l'activité du méthanol sur les souches de streptocoques.

Annexe 5 : l'activité de l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* sur les champignons.

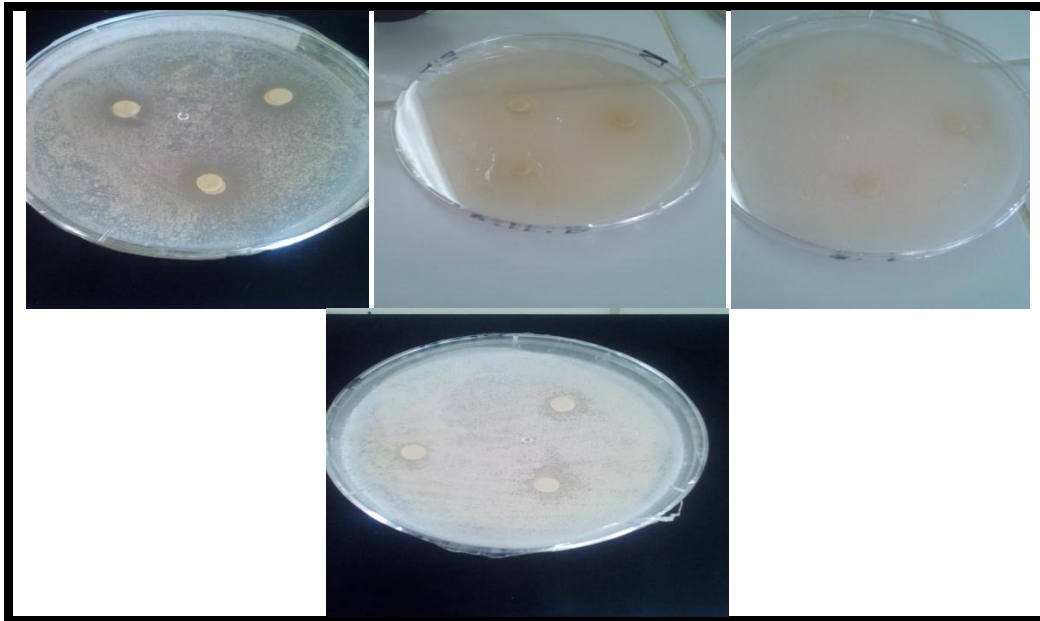


Photo 14 : l'activité de l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* sur les levures à partir des prélèvements 1, 4, 5,6.



Photo 15 : l'activité de l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* sur l'*Aspergillus* à partir de prélèvement 2.

Réalisé par :

M^{lle} : Aissani Sarra
M^{lle} : Beltitene Leila

Jury :

Président : Mr KHENNOUF T.
Examinatrice : M^{me} BOUSSOUF L.
Encadrante : M^{me} BENHAMADAW.
Date de soutenance : 02/07/2017

Theme : Activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* sur les souches microbiennes cliniques responsables d'otites**Résumé**

Dans cette étude nous avons essayé d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique d'*Eucalyptus globulus* sur les souches microbiennes cliniques responsables d'otites. Après l'extraction des composés phénoliques par macération dans le méthanol, on a obtenu un rendement important avec un pourcentage de 61.1%. Les résultats de l'activité antimicrobienne obtenus ont montré que l'extrait méthanolique exerce un effet antibactérien plus important que l'effet antifongique vis à vis des souches microbiennes isolées à partir des otites, les résultats obtenus se reflètent par les diamètres des zones d'inhibition. Les résultats aussi révèlent que les souches de *Staphylococcus aureus* sont plus sensibles que les souches des Streptocoques qui sont plus sensibles que les levures. Par contre aucune activité inhibitrice n'est obtenue sur *Aspergillus sp.*

Mot clé : *Eucalyptus*, Otites, activité antimicrobienne, extrait méthanolique, souches bactériennes, souches fongiques.

Abstract

In this study we tried to evaluate the antimicrobial activity of the methanol extract of *Eucalyptus globulus* on the clinical microbial strains responsible for otitis. After the extraction of phenolic compounds by maceration in methanol there was obtained a high yield with a percentage of 61.1%. The results of the antimicrobial activity obtained showed that the methanol extract exerts an antibacterial effect more than the antifungal effect against microbial strains isolated from otitis, the result obtained is reflected in the diameters of the zones of inhibition. The results also indicate that the Streptococcus strains are more susceptible than Streptococcus strains compared to yeasts. By cons no inhibitory activity is obtained on *Aspergillus sp.*

Key word: *Eucalyptus*, Otitis, antimicrobial activity, Antifungal Activity, methanolic extract, bacterial strains, Fungal strains.

الملخص

من خلال دراستنا اهتمنا بتحديد النشاط المضاد للميكروبات لمستخلص الميثانول للكاليبتوس على السلالات الميكروبية المسببة لالتهابات الاذن بعد استخراج المركبات الفينولية بواسطة النقع في الميثانول، تحصلنا على مردود مهم بنسبة 61.1 بالمائة.

نتائج النشاط المضاد للميكروبات المتحصل عليها أظهرت أن المستخلص الميثانولي مارس نشاط ضد بكتيري مرتفع عن النشاط ضد فطري على السلالات الميكروبية المعزولة من التهابات الاذن. النتائج المحصل عليها تنعكس في أقطار مناطق التثبيط، أيضا تبين النتائج بأن سلالات المكورات العنقودية هي الأكثر حساسية من سلالة المكورات السبحية التي هي أكثر حساسية من الخمائر. على العكس لم يسجل أي نشاط تثبيطي ضد *Aspergillus sp.*

الكلمات المفتاحية : الكاليبتوس، التهابات الاذن، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للفطريات، مستخلص الميثانول، السلالات البكتيرية، السلالات الفطرية.