

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique
Centre Universitaire
Abdelhak Ben Hamouda de Jijel
Institut des Sciences de la Nature

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المركز الجامعي عبد الحق بن حمودة - جيجل -
معهد علوم الطبيعة

Mémoire

M B 01 / 01

De fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme des études
supérieures en biologie moléculaire et cellulaire

Option : Microbiologie



Thème

01/03.

Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait de l'écorce du chêne-liège

Jury :

Président
Examineur
Encadreur

M^r : KISSERLI Omar
M^r : BOULDJEDRI Mohamed.
M^{me} : ROULA Sadjia.

Présenté par :

-ABIBES Nadia
-BARKAT Sarhouda



Promotion 2001

N° d'ordre :

Remerciement

Louange à dieu seul, qui nous a accordés ce savoir et qui nous a facilité le chemin dans notre études dès notre enfance. c'est grâce à dieu que nous avons pu réalisés ce mémoire.

Nous remercions :

Notre encadreur madame ROULA Sadjia qui nous a aidés à réaliser ce mémoire .

Notre enseignants sans acception .

Sans oublier notre assistante Lamia qui a été à la hauteur.

Ainsi les chercheurs de l'INRF de JIJEL, et surtout M^{er} ROULA Bilal.

Et toute personne qui nous a aidés de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Nadia & Sarhouda

Sommaire

I.	Introduction	1
II.	Analyse bibliographiques	
1.	Généralités sur les plantes médicinales	3
1.1.	Généralité sur l'emploi des plantes médicinales	3
1.2.	Historique sur la recherche des antibiotiques extraits a partir des plantes supérieures	3
1.3.	Le chêne-liège et le liège	4
	A. Généralités	4
	A.1. Le chêne-liège	4
	A.2. Le liège	4
	B. Classification	5
2.	La composition chimique du liège	6
3.	Rappel sur les substances anti-bactériennes : antibiotiques	11
3.1.	Définition	11
3.2.	Notions générales sur l'activité des antibiotiques	11
	3.2.1. Spectre antibiotique	11
	3.2.2. Sensibilité aux antibiotiques	11
	3.2.3. Résistance des bactéries aux antibiotiques	13
	a. Evolution des espèces bactériens vers la résistance	13
	b. Mécanismes d'apparition des souches résistantes	13
3.3.	Mode d'action des antibiotiques	15
3.4.	Les intérêts d'une association d'antibiotique	17
3.5.	L'antibiogramme	18
4.	Rappel sur les infections bactériennes.	19
4.1.	Généralités	19
4.2.	Les agents infectieux	19
4.3.	Les principaux agresseurs bactériens	20
	A. Agresseurs bacilles	20

A.1. <i>Citrobacter</i>	20
A.2. <i>Klebseilla</i>	20
A.3. <i>Enterobacter</i>	21
A.4. <i>Escherichia coli</i>	21
A.5. <i>Pseudomonas</i>	21
A.6. <i>Clostridium</i>	22
A.7. <i>Proteus</i>	22
A.8. <i>Bacillus</i>	22
A.9. <i>Germes fécaux</i>	23
B. Agresseurs Cocci	23
B.1. Les <i>Staphylocoques</i>	23
B.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	24
B.1.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	24
B.2. Les <i>Streptocoques</i>	25
- <i>Streptocoques de Groupe D</i>	25
III. Matériels et Méthodes	26
1. Préparation de l'extrait	26
2. Préparation de suspensions bactériennes	26
a. Prélèvement des échantillons	26
b. Isolement et identification des bactéries	27
3. Evaluation de l'activité antibactérienne	28
3.1. Test de diffusion	28
3.2. Test de dilution	30
3.2.1. Sur milieu liquide	30
3.2.2. Sur milieu solide	30
IV. Résultats et discussion	31
V. Conclusion	39
Annexe	

I Introduction

I- INTRODUCTION :

Sur notre planète , les premiers mammifères apparurent il y a quelques deux cent millions d'années, la forêt recouvrait la plupart des terres émergées. Plus récemment, il y a trois millions d'années, l'apparition de l'homme «homo sapiens» marquent le début de la relation entre les plantes et nos ancêtres , le début de la connaissance des plantes, que la plante soit comestible ou toxique qu'elle permette de tuer le gibier et l'ennemi ou de soigner.

Au fil du temps, les rapports sociaux entre les hommes s'organisent, l'un d'entre eux reçoit l'information de santé, il est capable de poser un diagnostic, de trouver la plante qui soigne et finalement de guérir la maladie.

C'est aussi en observant le comportement de chimpanzés africains qui se soignent avec des plantes qu'ils ont appris à reconnaître que l'on peut imaginer comment nos ancêtres hominidés ont utilisés les plantes pour leur soins de santé.

A la fin du 20^{ème} siècle, les substances naturelles, dont les plants constituent encore la source principale, et représentent près de 60% des médicaments dont nous disposons, les 40% restants ou médicaments de synthèse étant souvent nés de la modification chimique de molécules ou de partie de molécules naturelles prises comme « tête de séries » ainsi les antibiotiques.

Actuellement, la recherche de nouveaux médicaments d'origine naturelle passe par l'inventaire des plantes qui peuvent contenir une molécule active, sa purification, l'étude biologique de ses propriétés et de son mécanisme d'action, la synthèse ou hémisynthèse de cette molécule ou sa production par culture.

Enfin, une fois les études chimiques, biologique et toxicologique soigneusement exécutées, la mise en forme médicamenteuse permet la mise sur le marché. Entre le moment où l'activité d'une plante est découverte et celui de son utilisation comme médicament, il s'écoule en générale entre dix et quinze ans (14).

Le travail que nous avons effectués dans ce mémoire consiste à essayer de déterminer l'activité antibactérienne de l'extrait de l'écorce du chêne-liège et à pour buts :

-La mise au point d'une méthode d'étude afin de tester l'efficacité des substances émis par l'écorce du chêne-liège.

-La mise en évidence des phénomènes d'inhibition in vitro , vis- à- vis des souches bactériennes.

II
Analyse
Bibliographique

1- Généralités sur les plantes médicinales :

1-1- Généralités sur l'emploi des plantes médicinales :

Les recherches modernes ont montrés que l'action des plantes médicinales est due à quelques constituants élaborés par la plante, nous les appelons « principes actifs ».

Ainsi, après l'isolement des tanins de la tormentille, on pensa que ces tanins purifiés pourraient remplacer les drogues à tanins, par la suite on a pu établir que la plante médicinale possède une action plus complète que le principe actif.

Les principes actifs d'un bon nombre de drogues sont encore inconnus ou n'ont pas encore pu les isoler et déterminer leurs propriétés chimiques alors que l'on connaît au moins en partie l'activité de la drogue naturelle.

En médecine populaire on a plutôt tendance à sur-estimer l'action des plantes médicinales à laquelle on attribue de propriétés que ne peuvent pas justifier leurs constituants chimiques, on ne serait guérir la tuberculose, des maladies vénériennes, par l'emploi de plante. Dans ce cas là, elles peuvent tout on plus soutenir le traitement lors de maladies bénignes par contre comme les refroidissements d'inflammations des muqueuses, de la bouche du larynx, trouble de la digestion (6).

1-2- Historique sur la recherche des antibiotiques extraits à partir des plantes supérieures :

C'est en 1929 que TOKIN désigne sous le terme de phytoncides les substances antimicrobiennes produites ou émis par les végétaux supérieures . De nombreuses recherches ont été effectuées sur ce sujet et il semble que la plupart des espèces végétales produisent des substances antibiotiques inhibitrices de micro-organismes (1975).

Plusieurs auteurs ont mis en évidence la présence de substances inhibitrices de la croissance de micro-organismes chez quelques feuillus et résineux. Différents organes ont été étudiés, tel que les feuilles (1972) et l'écorce des troncs ou des racines (1973). (10).

1-3- Le chêne-liège et le liège :

A- Généralités :

A-1- Le chêne-liège :

Le chêne-liège (*Quercus suber.L*) est un arbre de faibles dimensions, typique des régions à climat tempéré chaud et humide, méditerranéen ou atlantique, c'est un arbre d'assez grande taille qui atteint ordinairement 10 à 14 m de haut(11). Il est caractérisé par :

- Un tronc court qui en part de grasses branches plutôt étalées que dressées. La tige est tortueuse et la ramification peu serrée.
- Des feuilles petites, fermes, coriaces et de forme oblongue ou ovale.
- Des fleurs unisexuées et portées sur un même arbre (floraison monoïque).
- Des glandes enchâssées dans un cupule grisâtre , ou rosâtre, portée sur un gros pédoncule très court.
- Enracinement robuste, puissant, plastique dont l'arbre est fixé solidement et résiste bien au vent et est jamais arraché.(8)
- Une garniture diploïde de 24 chromosomes (comme toute les *Fagacées*) qui sont très petites et se présentent sous forme bâtonnets de J ou V.(2)

A-2- Le liège :

Sur une coupe transversale d'un tronc de chêne-liège, on distingue de l'intérieur vers l'extérieur trois zones concentriques : le bois, le liber, le liège (suber).

Entre bois ^{et} le liber, se trouve une assise génératrice interne appelée assise cambiale donnant à l'extérieur des tissus libériens et à l'intérieur des tissus ligneux.

Le liber est chargé en tanin et les liègeurs lui donnent le nom de mère, c'est un tissu rosé, rugueux, dur, essentiellement vivant qui assure la circulation de sève élaborée.

Le liège ou suber, est un tissu mort constituant le revêtement protecteur de l'arbre. (8)

B- Classification :

Le chêne-liège appartient à l'ordre des *Fagales* et à la famille des *Fagaceae*. L'ordre des *Fagales* comprend des végétaux de grande taille, à feuilles simples ; les fleurs mâles et femelles portant sur un même pied (floraison monoïque).

Les caractères les plus apparents qui permettent habituellement de comparer et de distinguer les chênes sont tirés de la cupule . On peut séparer la section des chênes à cupule lisse, une autre section est celle du chêne chevelu ou section « *cerris* » qui groupe des espèces méditerranéennes telle que le chêne proprement dit ,*vélani* et le liège .les chênes de cette section ont les écailles de la cupule terminées en lanières plus ou moins longues ,sauf pour le chêne-liège.(12)

2-Composition chimique du liège :

Les premières études concernant la composition chimique du liège remontent à BRUGNATELLI(1787) qui a obtenu, après avoir traité cette substance par l'acide azotique, un produit qu'il appela acide subérique.

Plusieurs années plus tard, de nombreuses études chimiques sur le liège ont été réalisées. dont Klauber (1920) attribue au liège la composition suivante :

Subérine.....	58%
Cellulose.....	22%
Lignine	12%
Eau	05%
Cérine	02%
Vaniline ,acides phénoliques , tanniques,..etc...	1%



Plus récemment, on a attribué au tissu subéreux du chêne-liège la composition suivante :

-Acides gras et résines.....	45%
-Acides solubles dans l'eau.....	20%
-Substances ligneuses.....	27%
-Tanins, matières colorantes et sels minéraux....	7%

GUILLEMONAT (1942), à qui l'on doit des contributions récentes et précieuses à la connaissance de la chimie du liège, le considère comme formé principalement de deux groupes de substances :

1^{er} groupe : produits extractibles par l'action des dissolvants ; Ils représentent, au total, environ 19%. ce sont les céroïdes et les tanins.

2^{ème} groupe : en traitant par un alcali du liège déjà débarrassé des céroïdes et des tanins, on obtient :

- Des acides solubles dans l'eau constituant 21% du liège.
- Des acides gras insolubles dans l'eau représentant 32% du liège.
- Un résidu insoluble dans l'eau et dans les dissolvants organiques représentant 27% du liège.(12)

Actuellement selon le groupe « Amorim 2000 » la composition chimique du liège est :

- Subérine (45%) : principal composant des parois des cellules du liège, responsable de son élasticité.
- Lignine (27%) : élément contribuant à la liaison entre les divers composants.
- Polysaccharides (12%) : composants des parois des cellules contribuant à la définition de la texture du liège.
- Céroïdes (6%) : composés hydrophobes assurant l'imperméabilité.
- Tanins (6%) : composés qui déterminent la couleur.
- Divers (5%) : minéraux, eau, glycérine et autres .(A)

Et parmi ces composants on distingue :

a- La subérine :

Le constituant le plus important des tissus subéreux, est une substance très complexe , et encore mal connue parce qu'on n'a pas pu obtenir à l'état pur.

Mais d'après plusieurs analyses, on considère que la subérine est formée d'un mélange d'acides gras à poids moléculaires élevés, quelques uns d'entre eux étant insaponifiables ou insolubles, d'autres à composition chimique inconnue.

Parmi les acides gras qui ont déjà été identifiés, et qu'on a pu obtenir à l'état pur :

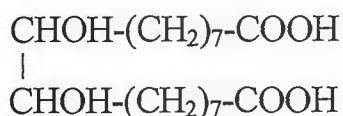
-L'acide phénolique dont la formule est :



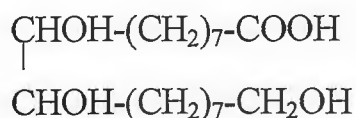
-L'acide phélogénique à formule:



-L'acide phloïnoïque (octadécaol 9 –10 dicarboxylique 1,18) à formule :



-L'acide phloïnoïque (Tioxy – 9, 10, 18 stéarique) à formule :



Parmi les acides qu'il n'a pas été possible d'isoler à l'état pur, sont l'acide subérique, l'acide subérolique, et l'acide corticinique.

Pratiquement, la subérine peut être considérée infusible, elle est insoluble dans les dissolvants usuels : eau, éther, chloroformeetc.

b- Les céroïdes :

Sont des substances importantes du liège, qui renferment des cires, des stérines et les glycérides.

Les principaux composants de la fraction céroïdes sont :

la cérine, et la fridéline qui constituent 2 ou 3% du liège, dont le pourcentage de céroïdes plus élevé dans le liège mâle que dans le liège de reproduction (12)

c- Les tanins :

Dans les analyses effectuées à la station du chêne-liège par CARVALHO(1949) ont donné les résultats suivants, en ce qui concerne la teneur en tanin de la couche mère du liège mâle et du liège de reproduction de même arbre :

Mère du liège mâle :

Extrait total.....21,68%

Tanin.....12,38%

Mère du liège de reproduction :

Extrait total.....19,00%

Tanin.....10,00%

Autres analyses réalisées en Algérie ,et en utilisant peut être la mère du liège mâle de vieux arbres, ont donné les résultats que voici(moyenne de 4 échantillons).

Extrait total.....26,65%

Extrait soluble24,72%

Tanins.....15,26%

La teneur en tanin diminue avec delièges successifs au fur et à mesure que se réduisent la surface de l'écorce à tanin et par conséquent l'épaisseur du liber inactif où les tanins s'accumulent principalement.

A l'écorce à tanin du chêne-liège utilisés comme matière tannante, BALDRCCO (1934) attribue les propriétés suivantes :

- Teneur en tanin relativement élevée.
- Solubilité facile des tanins dans l'eau.
- Fermentation lente.
- Faculté d'augmenter le solubilité des tanins qui sont ajoutés et d'absorber certaines substances colorantes existants dans d'autres matières végétales dont on se sert pour le tannage.(12)

**Tableau I : Composition Chimique du Liège D'après Différents Auteurs
(RIBAS MARQUES, 1952) . (12)**

	KUGLER 1884	ZEMPLÉN 1913	GUILLEMONAT 1942	FIERZ- DAVID et ULRICH 1945	COOKE 1949
Humidité	5%	6.21%	-	7%	3-7%
Cendres	0.5%	4.12%	-	-	0.1-0.2%
Tanins et phlobaphènes...					2.5-6.5%
Extrait chloroformique.....	Cérine :2.9 Acide :10 } 13%		19.0%		2- 3%(cérine)
Extrait alcoolique		10.5%		20%	
Extrait avec alcali alcoolique.	Acides : 30%	38.65%	32.0%	50%	24-35%
	Glycérine :2.65% <u>32.65%</u>				
Extrait aqueux	8%	14.0%	21.0%		
Extrait avec SO ₄ H ₂	dilue (1.5%)	1.5%			
Cellulose et substances analogues.....	22%			11%	20-32%
Lignine	12.85%				
Résidus ligno-cellulosiques et substances analogues à la cellulose.....		24.5%	27.0%		



3- Rappel sur les substances antibactériennes : antibiotiques

3-1- Définition des antibiotiques :

L'antibiotique est une substance d'origine biologique ou synthétique, agit spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme des bactéries (agent antibactérien) ou des champignons (agent antifongique).(4)

De la définition initiale : « substance provenant de micro-organismes et susceptible d'entraver la multiplication de certaines bactéries, on est arrivé à une conception plus vaste, car :

- Les antibiotiques d'origine naturelles ont été ultérieurement obtenus par synthèse (chloramphénicol) :
- Des substances artificielles (sulfamides, isoniazide, acide nalidixique) possédant les mêmes propriétés ;
- Des substances extraites de micro-organismes agissent également sur les cellules néoplasiques (actinomycine).(9)

3-2-Notions générales sur l'activité des antibiotiques :

3-2-1- Spectre antibiotique :

C'est l'ensemble des agents infectieux sensibles à l'action d'un antibiotique donné, il est déterminé expérimentalement in vitro et in vivo.(9)

3-2-2- Sensibilité des bactéries aux antibiotiques :

Deux techniques sont utilisables au laboratoire pour établir l'antibiogramme, C'est -à- dire la sensibilité des germes isolés par hémoculture, uroculture, coproculture :

- La méthode des dilutions sériées.
- La méthode de diffusion en gélose.

Le résultat qualitatif est suffisant pour les infections courantes, mais pour les infections sévères , il est nécessaire d'établir en plus le pourcentage de bactéries survivantes après 24 heures de contact avec l'antibiotique. Cette méthode se pratique en milieu solide ou liquide, consiste à mettre en présence d'une concentration d'antibiotique supérieure à la concentration minimale inhibitrice

(CMI) et un nombre connu de bactéries. Ainsi peut on choisir l'antibiotique qui aux concentrations correspondantes laisse un plus petit nombre de survivants.

Cette méthode est à l'origine de la définition actuelle de l'effet bactéricide par opposition à l'effet bactériostatique.

* **Bactéricide** : Détruisant les germes, c'est -à- dire ne laissant subsister que 0,01 germesensemencés, le seul bactéricide est défini in vitro par la concentration minimale bactéricide (CMB).

* **Bactériostatique** : arrêtant la multiplication des germes, prévenant leur diffusion. On se souviendra que le seul bactériostatique est définie in vitro par CMI.

Les antibiotiques sont en générale, en fonction de leurs concentration d'abord bactériostatiques, puis bactéricides.

Exemple : La pénicilline est bactéricide à des concentrations à peine plus élevées que les concentrations où elle est bactériostatique.

La recherche concernant la sensibilité des germes aux antibiotiques peut avoir plusieurs buts, tout d'abord, pour sélectionner les antibiotiques les plus actifs. Il est indispensable de mesurer cette activité, ensuite au cours du traitement des maladies infectieuses, il est capital de connaître l'antibiotique le plus efficace, donc de le tester vis-à-vis du germe responsable.(4)

La figure I montre l'évolution d'une culture bactérienne en présence d'une concentration définie d'antibiotique.

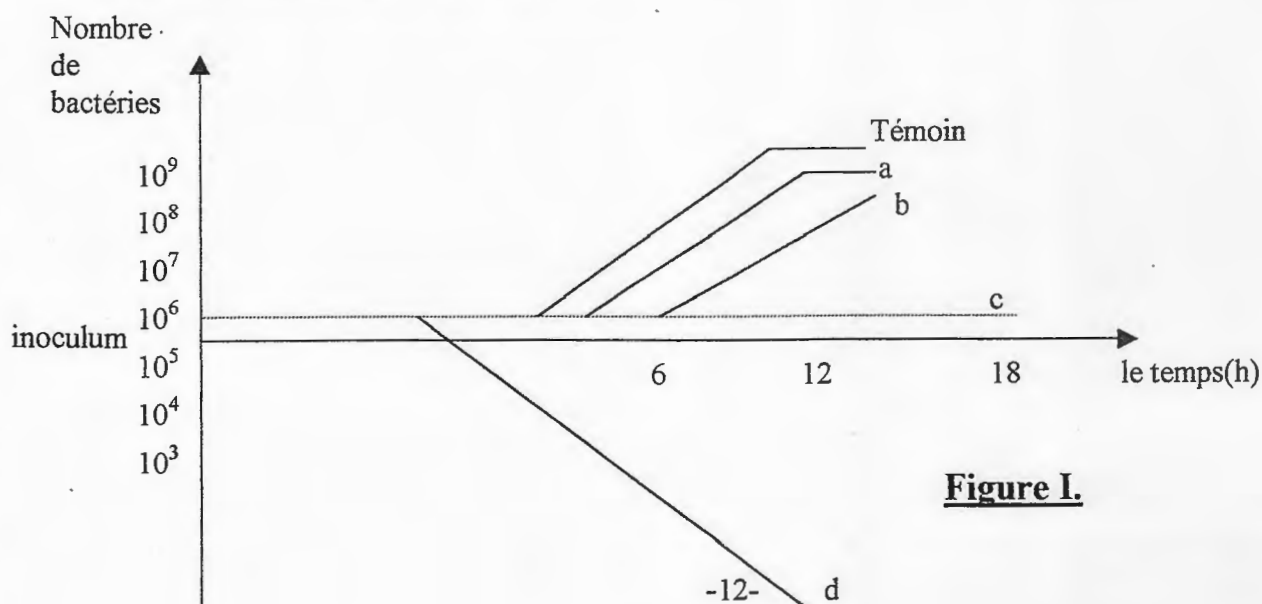


Figure I.

- La courbe « a » montre la croissance bactérienne en présence d'une concentration « sub-inhibitrice » d'antibiotique.

- Les courbes « b » et « c » montrent la croissance bactérienne en présence des concentrations supérieures affectant la croissance bactérienne « concentration bactériostatique ».

L'effet bactériostatique est caractérisé par un nombre de bactéries inférieure à celui d'une culture témoin sans antibiotique et égale au nombre des bactéries inoculées, ceci peut être le résultat soit d'une diminution du nombre (ou d'un arrêt) des divisions des bactéries sans altération de leur vitalité, soit d'un équilibre entre la croissance et la mort des bactéries.

- La courbe « d » montre la croissance bactérienne en présence d'une concentration bactéricide d'antibiotique « le nombre de bactéries viables est inférieur au nombre des bactéries inoculées. (2)

3-2-3- Résistance des bactéries aux antibiotiques :

A- Evolution des espèces bactériennes vers la résistance :

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques a beaucoup évolué de sorte que le pourcentage des souches résistantes dans les différentes espèces pathogènes est actuellement important, depuis l'introduction successive de ces antibiotiques en thérapeutique.

Cette évolution toute fois a été inégale pour les différents groupes bactériens, parce que au sein d'une population bactérienne, seulement certaines bactéries au départ sensibles aux antibiotiques peuvent devenir résistantes : c'est la résistance dite acquise.

B- Mécanismes d'apparition des souches résistantes :

a- Mécanisme génétique de la résistance :

La détermination de la résistance aux antibiotiques a deux supports génétiques :

-Un support chromosomique.

-Un support extrachromosomique.

Donc on a deux mécanismes de résistances aux antibiotiques.

a-1- Résistance chromosomique :

Le phénomène de la résistance d'origine chromosomique correspond à une mutation.

C'est le mécanisme qui fut le premier mis en évidence, il est en effet facile d'isoler au laboratoire des bactéries résistantes à partir d'une population sensible.

a-2- Résistance d'origine extrachromosomique :

La résistance par mutation chromosomique n'explique sans doute que 10 à 20% des souches résistantes isolées en clinique. 80 à 90% relèvent de la résistance extrachromosomique dont le déterminant génétique de cette dernière est un fragment désoxyribonucléique extrachromosomique que l'on désigne sous le nom de facteur de résistance, sur lequel les caractères de résistance à différents antibiotiques sont inscrits chacun en un locus spécifique.

b- Mécanismes biochimiques de la résistance :

On peut diviser les mécanismes biochimiques impliqués dans le phénomène de résistance en deux catégories :

b-1- Sécrétion d'enzyme : certaines bactéries sécrétant une enzyme qui assure l'inactivation ou même la destruction de l'antibiotique.

b-2- phénomène de tolérance : dans d'autres cas, la bactérie résistante est capable de cultiver en présence de l'antibiotique sans que la structure de celui-ci soit modifiée.(4)

3-3- Mode d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques ne doivent agir que sur les cellules procaryotes afin de ne pas atteindre les cellules du patient traité. Leurs effets se porteront donc sur des structures ou des voies métaboliques propres à ce type de cellules.

C'est le cas de la paroi bactérienne ; si une molécule agit sur cette structure indispensable à une survie correcte de la bactérie, elle peut atteindre l'agent infectieux sans pour autant léser les cellules eucaryotes proches .Un autre exemple est fourni par les ribosomes qui sont différents chez les cellules eucaryotes et procaryotes ; il sera possible d'agir sur les uns sans inhiber les autres.

La synthèse des acides nucléiques constitue également une voie métabolique différente selon les deux types de cellules. Cependant les voies métaboliques touchées par les antibiotiques sont complexes , c'est pourquoi des molécules de structure très diverses peuvent agir en des points différents d'une même voie.

Cet aspect peut être exploité lors de l'association d'antibiotiques, association permettant un traitement plus efficace et surtout plus fiable. (f)

**Tableau II : Classification des Antibiotiques Selon leur Structure Chimique
(familles), leur Site et leur Mode D'action sur les Bactéries (4)**

Familles d'antibiotiques		Site d'action	Mode d'action
Antifolates	Sulfamide	Matériels nucléiques	Bactériostatiques
	Trimethoprime		
Phénicoles	Chloramphénicol	Fraction 50 S	
	Thiamphénicol		
Macrolides	Erythromycine	Fraction 50 S	
	Lincomycine		
	Spiramycine		
	Pristinamycine		
	Virginiamycine		
Cyclines	Tétracycline	ARN / Ribosome	
β-lactamines	Pénicillines	Pénicilline	Paroi
		Ampicilline	
		Amoxicilline	
		Oxacilline	
		Ticarcilline	
	Céphalosporines	Céfalotine	
		Céfaloridine	
		Céfazoline	
		Céfotaxine	
	Aminosides	Streptomycine	
Gentamicine			
Tobramycine			
Amikacine			
Kanamycine			
Rifampicine	Rifampicine	Matériels nucléiques	
Polypeptides	Colistine	Membrane	
	Bacitracine		
	Polymyxine		
Quinolones	Acide nalidixique	ADN	
	Pefloxacine		
Divers	Nitroxoline		
	Fosfomycine		
	Novobiocine	Matériels nucléiques	
	Vancomycine	Paroi	
	Furanes		

~~3-4~~ Intérêt d'une association d'antibiotiques :

Les associations d'antibiotiques répondent à une logique propre, fonction de l'activité antibactérienne et du site d'action. Il y a synergie lorsque l'activité de l'association est supérieure à l'addition des deux activités envisagées séparément, et antagonisme dans l'hypothèse inverse.

Les règles suivantes sont habituellement proposées :

Règle 1	Bactériostatique+Bactériostatique=addition
Règle 2	Bactéricide+Bactériostatique=antagonisme
Règle 3	Bactéricide+Bactéricide=synergie

Dans certaines circonstances, le médecin peut être amené à employer une association d'antibiotiques pour traiter une maladie infectieuse d'origine bactérienne.

Quatre motifs essentiels justifient une telle décision :

- 1)- l'obtention d'un effet bactéricide maximal.
- 2)-une infection peut être causée par plusieurs espèces bactérienne.
- 3)- le malade infecté nécessite l'instauration en urgence d'un traitement par deux antibiotiques ayant un spectre d'activité antibactérienne complémentaire avant même que le diagnostic bactériologique de l'infection n'a été établi.
- 4)- l'utilisation des antibiotiques prévient l'émergence de bactéries mutantes résistant à l'action d'un antibiotique.(4)

3.5- L'antibiogramme :

L'antibiogramme est la méthode analytique qui permet de définir in vitro l'antibiotique le plus actif sur un germe, et consiste à évaluer l'antibiotique vis-à-vis des traitements possibles chez un patient, d'où son intérêt en milieu médical.

-Une souche est dite sensible à un antibiotique si sa croissance peut être réduite par un traitement standard à base de cet antibiotique. Ce traitement standard est le plus souvent défini par l'industriel qui met l'antibiotique sur le marché.

-Une souche est dite résistante à un antibiotique si elle ne peut être atteinte par un traitement, même en augmentant les doses d'antibiotique.

-Une souche est dite intermédiaire à un antibiotique si elle n'est pas atteinte par un traitement standard, mais si une augmentation de la dose d'antibiotique permet de détruire le germe. Cette augmentation peut être celle de la dose administrée ou celle de la concentration tissulaire.

-Une souche est dite sensible à un antibiotique si la CMI (concentration minimale inhibitrice) est inférieure à la CCI (concentration critique inférieure)

-Une souche est dite résistante si la CMI est supérieure à la CCS (concentration critique supérieure).

-Une souche est dite intermédiaire si la concentration minimale inhibitrice (CMI) se situe entre la concentration critique inhibitrice (CCI) et la concentration critique supérieure (CCS).

L'antibiogramme consiste à rechercher le pouvoir bactériostatique ou bactéricide de sérum ou rarement d'un autre liquide biologique (liquide céphalo-rachidien, par exemple).

L'antibiogramme standard n'est que l'indication de la bactériostatique de plusieurs antibiotiques sur la souche isolée.(9)

4- Rappels sur les infections bactériennes :

4-1- Généralités :

Les microbes sont présents dans l'air, l'eau, le sol, les aliments, les animaux et les individus, éléments qui constituent un vaste « réservoir » où peut se faire la contamination.

L'infection est le résultat de l'agression de l'organisme par un germe vivant « pathogène ». la maladie infectieuse apparaît quand la virulence du microbe dépasse les moyens de défense de l'individu.

L'infection peut se faire par contact direct à partir d'un individu ou un animal porteur du micro-organisme, ou indirect avec l'environnement.(C)

4-2- Les agents infectieux :

Les agents infectieux sont les bactéries, les virus, les protozoaires et les champignons.

Localement, la défense anti-infectieuse est d'abord passive : barrière cutanée, fonction ciliaire de l'épithélium respiratoire, qui s'oppose à la pénétration des corps étrangers—puis active : les globules blancs tentent de détruire l'agent d'invasion par le mécanisme de la phagocytose.

Les micro-organismes normaux de la flore buccale, intestinale ou génitale font concurrence aux germes pathogènes. Cet équilibre écologique délicat peut être modifié par l'usage antibiotique. Au niveau générale, les mécanismes immunitaires entraînent la fabrication d'anticorps spécifiques de l'agent infectieux qui cherchent à la neutraliser.(B)

4-3- Les multiples voies de contagion :

La contagion peut se faire par les sécrétions respiratoires, et par l'air exhalé, par la peau ou les muqueuses.

La voie infectieuse passe aussi par les déjections (eau contaminée et par la transfusion sanguine), par les germes pathogènes qui excrètent par les animaux et par les bactéries du sol qui sont des agents accidentels de contamination, d'une blessure (tétanos) ou de l'alimentation (botulisme).(C)

4-4- Les principaux agresseurs bactériens :

A- Agresseurs bacilles :

A-1- *Citrobacter* :

Ce germe rassemble trois espèces d'*Entérobactériaceae* qui ont les caractères bactériologiques suivantes : citrate (+), fermentation du glucose avec gaz, mobilité (+), test ONPG (+) VP(-), LDC (-).

Il existe de nombreuses souches atypiques de *Citrobacter* qui sont ONPG (-) et produisent de l' H_2S , ils peuvent être confondues avec les *Salmonella*.

Certaines souches peuvent être H_2S (-) ou citrate de simons négatif ou ogazogènes.

- **Habitat et pouvoir pathogène :**

Les *Citrobacter* sont des bactéries commensales du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud.

Ils sont trouvés dans l'environnement et dans les eaux, et peuvent être isolés occasionnellement d'urines ou de suppurations diverses.

A-2- *Klebsiella* :

Ce sont des *Enterobactériaceae* toujours immobiles, capsulées et fermentant de nombreux glucides, H_2S (-).

- **Habitat et épidémiologie :**

Klebsiella pneumoniae et *K. oxytoca* sont les espèces les plus souvent rencontrées. Elles sont fréquemment isolées des eaux, du sol et des végétaux. et sont présents dans la flore fécale de l'homme et sont souvent commensales de la peau, du muqueuses et des voies respiratoires (1).

- **Caractères bactériologiques :**

Klebsiella donnent après 24 heures à 37°C des colonies rondes, lactose (+), bombés, muqueuses et ayant une tendance à la confluence.

K. pneumoniae est VP (+), ONPG (+), LDC (+), et ferment le glucose avec production du gaz (1).

A-3- *Enterobacter* :

Ce sont des *Enterobactériaceae* VP (+), voisines des *Klebsella* dont elles se distinguent par leur mobilités.

Par la présence de ODC d'ADH et par l'absence de l'urease. TDA (-), DNASE(-), indole (-), H₂S (-), l'espèce type est *E.cloacae* est : ADH (+), LDC(-), ODC (+), sorbitol (+), uréase (-), pigment jaune (-)

• **Habitat et pouvoir pathogène :**

Les *Entèrobacter* sont les commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. On les trouve dans les eaux, le sol, sur la peau, et les muqueuses, ce sont des bactéries de l'hospitalisme (1).

A-4- *Eschèrichia coli*:

E.coli est l'une des espèces bactérienne les plus souvent rencontrées en pathologie humaine. les bactéries appartenant à l'espèce *E.coli* constituent la majeure partie de la flore micro-bactérienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux.

E.coli peut être responsable de plusieurs infections:urinaires, de tube digestif et des méningites néo-natales.

• **Caractères bactériologiques :**

E.coli est une *Entérobactérie* :c'est à dire qu'il s'agit d'une bacille à

Gram(-),oxydase(-), aérobie facultatif cultivant rapidement sur milieu ordinaire, fermentant la glucose avec production du gaz, possédant une nitrate réductase (1).

A-5- *Pseudomonas* :

Les germes pathogènes pour l'homme. Les bacilles à Gram (-),aérobie résistant dans l'environnement, possédant une grande capacité d'adaptation à des conditions de vie défavorable.

P.aeruginosa est un bacille à Gram (-), fin, de 1,5 – 3 µm de long et

0,5 – 0,8 µm de large, mobile, aérobie stricte, oxydase (+), il croit facilement sur les milieux ordinaires (1).

A-6- Clostridium :

C'est un bacille à Gram (+), sporulé, anaérobie stricte tellurique mais également isolé dans l'intestin et les selles des divers animaux et de l'homme, ainsi la présence de *Clostridium* dans les eaux ou les aliments lors de la contamination fécale.

Il est mobile, catalase (-) , mannitol (-), production d' H_2 (+), la plupart des caractères biochimiques sont variés selon les espèces de *Clostridium*.

Le pouvoir pathogène du *Clostridium* est lié à des toxines et /ou à des activités enzymatiques. Les principaux aspects sont : tétanos, botulisme, intoxication alimentaire...etc. (1)

A-7- Proteus :

Les *Proteus* sont des *Entérobactérie*, responsables de nombreuses infections chez l'homme en particulier chez les malades hospitalisés.

Ils sont des germes ubiquitaires largement répandus dans la nature, retrouvés dans les eaux, le sol et sur de nombreux végétaux, où ils participent aux cycles de dégradation des matières organiques, ils font partie de la flore commensale de l'intestin de l'homme et de nombreux animaux.

• Caractères biochimiques :

Les *Proteus* sont caractérisés par leur uréase très active, la production d' H_2S , d'une gélatinase et leur pouvoir glucidolytique faible, bacille Gram(-),aéro-anaérobie, oxydase (-), nitrate réductase (+). (1)

A-8- Bacillus :

Les *Bacillus* sont des bacilles Gram(+), aérobies strictes ou anaérobie facultatifs, il comprend une vingtaine d'espèces. Mais on s'intéresse essentiellement à *B.anthraxis* en raison de son pouvoir pathogène, et

B.cereus (intoxication alimentaire). Mais il y a des espèces responsables de l'infection chez les immunodéprimés (méningites).

- **Caractères biochimiques :**

Ils sont des bactéries catalase (+), Oxydase (\pm), Nitrate réductase présente ou non selon les espèces. Uréase (+), indole rarement positif (1).

A-9-Les germes fécaux :

Comme les germes pathogènes, sont éliminés par les matières fécales ; de ce fait, leur mise en évidence dans l'eau permet d'estimer la possibilité de la présence de germes pathogènes.

Les germes fécaux, que l'on appelle souvent germes « tests » ou témoins de contamination fécale, sont des micro-organismes saprophytes, et parmi les quels on trouve les coliformes qui sont *Klebsella*, *Entèrobacter*, *Citrobacter*, *Eschérichia coli*

B- Agresseurs cocci :

B.1. Les *Staphylocoques* :

- **Habitat et épidémiologie :**

Il s'agit de germes très répandus dans la nature (air, sol, eau). Les *Staphylocoques*, en particulier les espèces *S.aureus* et *S.epidermidis* font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des « porteurs asymptomatiques ».

Dans notre travail généralement ces souches sont isolées à partir des urines, prélèvement vaginal, cependant ces souches peuvent être à l'origine d'auto-infections ou contaminer d'autres individus.

Les *Staphylocoques* peuvent être trouvés particulièrement dans les fosses nasales antérieures (*S.epidermidis* 30-100% ; *S.aureus* 30-40%); On peut également les isoler de la peau (*S.epidermidis* 85-100%) et surtout les zones humides et chaudes de celle ci (creux auxiliaire, périnée) où l'on peut également trouver *S.aureus*, il n'est pas rare d'isoler *S.aureus* des selles.

B-1-1-*Staphylococcus aureus* :

- **Pouvoir pathologique naturel :**

Les infections à *S.aureus* sont très fréquents et apparaissent sous des aspects cliniques très variés.

- Les *Staphylococcus* cutanées, sous cutanées et muqueuses.

- L'infection superficielle : se traduit par un anxyis, un imétigo ou une folliculité.

- L'infection profonde : est représentée par des abcès introfolliculaires de toute la gaine du poil appelés furoncles, ou par des infections des canaux des glandes sudoripares appelés hydrosadénites.

L'anhrax est un conglomérat de furoncle et la staphylococcie maligne de la face en est une localisation particulièrement grave. furunculose et hidrosadénite peuvent être récidivantes.

Ces résidines sont parfois liées à des facteurs déclenchants diabète, surmenage,...

2- Localisation viscérale à *S.aureus*.

3- Toxi-infection alimentaire .

4- Septicémies à *S.aureus*

5- Entérocolites aiguës.

6- Syndrome de choc toxique (TSS).

B-1-2- *Staphylococcus epidermidis* :

Il peut être responsable d'infection de prothèses vasculaires ou articulaires, de valvès cardiaques, de valves de dérivations du LCR, il était également impliqué dans la survenue de péritonites consécutives à des drogues, s'endophthalmie et l'infection divers particulièrement chez immunodéprimés. L'aptitude de cette espèce à coloniser la surface des polymères (cathéters, prothèse) ; et les cellules serait liées a l'abondance capsule polysaccharidique produite par ce germe.

- **Caractère biochimique :** coagulase (-), nitrate réductase (+), D-mannitol (-). (1)

B.2. Les Streptocoques :

a. *Streptococcus pyogenes* (groupe A).

b. *Streptococcus agalactiae* (groupe B).

c. *Streptocoques de groupe D* :

• Pouvoir pathogène :

Les *Streptocoques de groupe D* sont subdivisés en cinq espèces d'intérêt médical, trois d'entre elles étant communément appelées *Entérocoques*. (3)

Chez l'être humain les *Streptocoques de groupe D* peuvent être impliqués dans la bactériémie, les cholécystites et les infections de blessures.

Ils sont responsables d'environ 20% de tous les cas d'endocardites, avec *Bactéroïdes fragilis* et *E.coli*. Les *Enterocoques* sont les germes le plus souvent isolés des abcès intra-abdominaux. (5)

Les *Streptocoques de groupe D* sont des cocci à Gram positif, en chaînettes. Elles peuvent être isolées facilement d'un foyer cutané et poussent facilement sur gélose au sang en 24 h. (3).

III
Matériels
&
Méthodes

III- Matériels et méthodes :

Notre travail consiste à vérifier l'activité antibactérienne de l'extrait de « l'écorce de chêne -liège » sur différentes bactéries par différentes méthodes in vitro (au laboratoire).

Les étapes de notre travail sont :

- Préparation de l'extrait.
- Préparation des suspensions bactériennes.
- L'ensemencement des bactéries sur milieu de culture.
- Enfin l'évaluation de l'activité antibactérienne.

1- Préparation de l'extrait :

Après prélèvement de l'écorce de chêne -liège, nous déposons directement 50 g de l'écorce dans 100 ml d'eau distillée, et 50 g dans 100 ml de méthanol pendant 2 ou 3 semaines, sachant que le méthanol est un solvant.

- Ensuite la filtration de la solution obtenue.
- L'évaporation sous vide se fait grâce au rotavapor à température de 50c°, pour séparer l'extrait de solvant.
- Après l'obtention de l'extrait qui est préparé avec l'eau distillée, on le dissout par l'éther de pétrole .

2- Préparation des suspensions bactériennes :

a) Prélèvement des échantillons :

Les différents échantillons biologiques (selles, urines, prélèvement vaginal, pus, sang, sperme, liquide céphalorachidien (LCR)). prélevés sur des malades hospitalisés ou des personnes externes sont acheminés au laboratoire de bactériologie du secteur sanitaire de Jijel pour les analyser.

Les prélèvements arrivent au laboratoire dans des tubes à essais ou des écouvillons. Ils sont réalisés et conservés selon les règles d'asepsie pour éviter toute contamination.

b- Isolement et identification des bactéries :

b-1- Isolement :

A partir des prélèvements arrivant au laboratoire, l'isolement des bactéries se fait par l'ensemencement de différents milieux de culture suivant le type de germe recherché. Selon le schéma suivant :

1. L'ensemencement sur milieu sélectif, puis incubation à 37°C :
 - Gélose BCP pour les *Entérobactéries*.
 - Gélose CHAPMAN pour les *Staphylocoques*.
 - Gélose au sang pour les germes exigeants.
2. Réalisation d'une coloration de Gram à partir de la pousse afin de déterminer la morphologie du germe (cocci ou bacille).
3. Réalisation de plusieurs tests d'identification des germes pathogènes.

b-2- Identification des germes :

Cette étape est basée sur :

- L'aspect et la couleur des colonies.
 - Isolement sur milieux sélectifs.
 - Mode de regroupement du germe.
 - Virage du milieu.
 - Coloration de Gram.
 - La galerie biochimique pour les germes qui sont isolés à partir du BCP.
 - La mobilité.
- * *Staphylococcus aureus* : est identifié par la réalisation du test de la coagulase qui est positif.
- * *Staphylococcus epidermidis* : est identifié par le test de la coagulase qui est négatif.
- * *Streptocoques de groupe D* : isoler du milieu litesky.
- * *Clostridium* et *proteus mirabilis* : à partir du gélose au sang.
- * *Escherichia coli* et *Pseudomonas aerogenosa* : sont identifiés à partir de la galerie biochimique.

Une fois les espèces isolées et identifiées, on les ensemence sur les tubes de la gélose nutritive inclinée.

On conserve les souches au réfrigérateur à 4°C.

Ensuite on les ensemence sur bouillon nutritif afin d'avoir une culture jeune sur laquelle on procède à la détermination de l'activité antibactérienne de notre extrait.

3- Evaluation de l'activité antibactérienne :

3-1- Test de diffusion :

Les tests les plus utilisés en pratique courante sont les tests qualitatifs de diffusion en Agar, leur principe est le suivant :

Un disque imprégné de la substance testée, il est placé sur la surface d'une boîte de Pétri contenant la gélose Muller - Hinton qui a été préalablement ensemencée avec une culture de bactéries.

La substance (l'extrait) commence à diffusée radicalement dans la gélose réalisant un gradient de concentration décroissant autour du disque ; les bactéries ensemencées croissent jusqu'à la limite où la concentration est suffisante pour inhiber la croissance ; ainsi on peut mesurer le diamètre de la zone d'inhibition.

3-1-1- Préparation des disques :

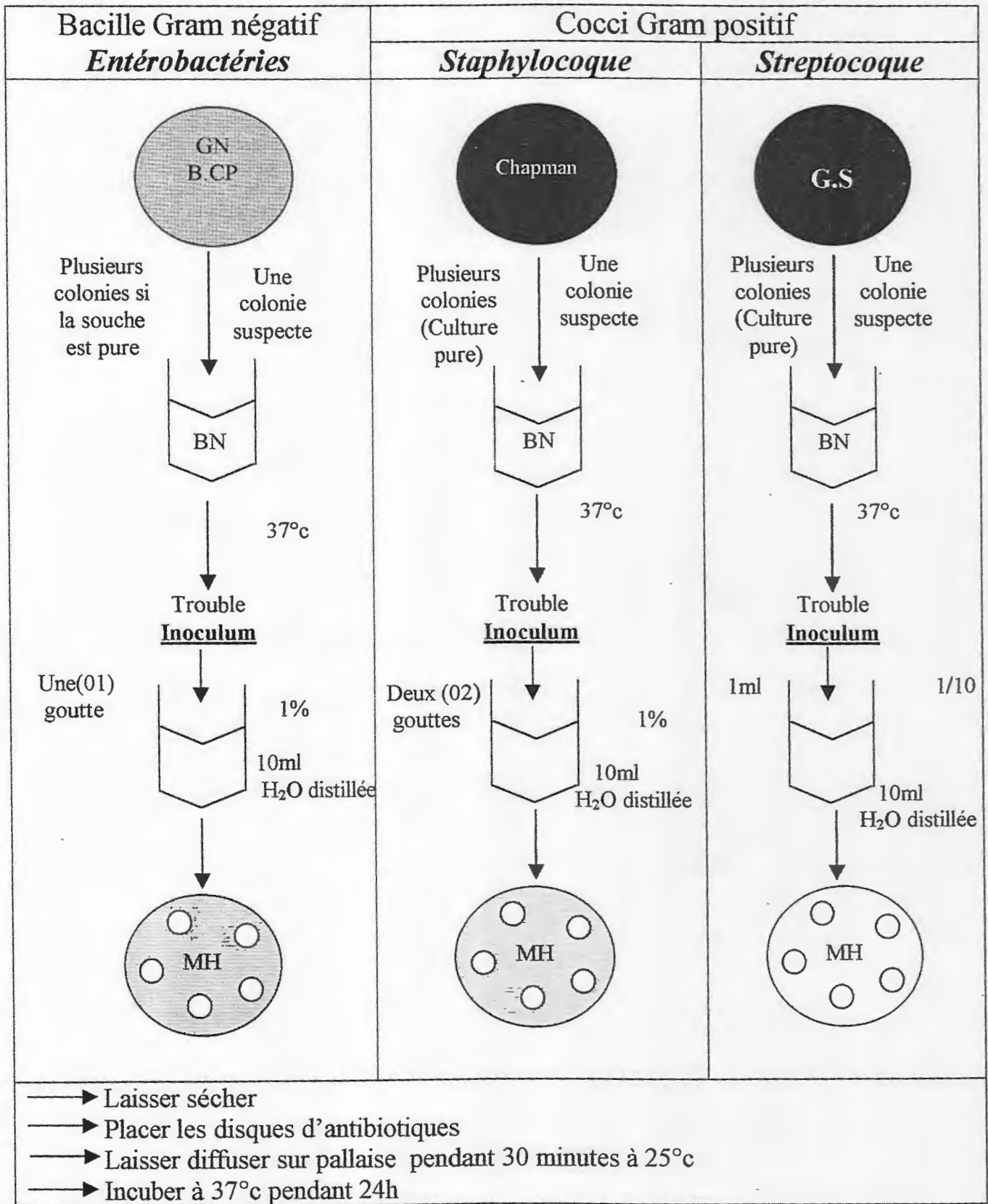
- Nous utilisons du papier Wattman découpé en rondelles de 6 mm de diamètre.
- Les disques, après stérilisation à l'autoclave sont imprégnés avec l'extrait de l'écorce du chêne-liège à l'aide de la pipette Pasteur et nous les laissons sécher.
- La préparation des disques s'effectuée dans des conditions d'asepsie rigoureuses pour éviter toute contamination.

3-1-2-Technique :

- Nous coulons la gélose Muller -Hinton sur boîte de Pétri.
- Nous laissons refroidir.
- Nous ajoutons une colonie de germe avec l'anse de platine à un tube à essai contenant 10 ml d'eau distillée, nous mélangeons bien pour homogénéiser la suspension.

- Nous ensemençons chaque boîte avec le germe testé à l'aide d'une pipette Pasteur avec la méthode d'étalement en râteau.
- La gélose doit êtreensemencée sur toute la surface de manière homogène par la suspension déjà préparé, puis nous rejetons le sur plus.
- Le séchage se fait soit sur la paillasse, soit à l'étuve à 37c°
- Nous déposons les disques imprégnés de l'extrait (des disques contenant l'extrait préparés par l'eau distillée, et d'autre par le méthanol) sur la géloseensemencée.
- Nous laissons certains espace entre les disques.
- Nous déposons un disque d'antibiotique comme référence.
- Les boîtes sont laissées 30 minutes sur la paillasse pour permettre la diffusion de l'extrait et l'antibiotique.
- Incubation à l'étuve à 37c° pendant 24 heures.

Antibiogramme



3-2- Test de dilution :

3-2-1- Sur milieu liquide :

La mesure la plus simple de l'activité antibiotique sur des bactéries consiste à incuber dans un tube sans croissance de concentration puis on observe l'effet de ces concentrations.

- Pour chaque germe, nous prenons 4 tubes à essais contenant 0,5 ml de bouillon nutritif.
- Nous mettons dans chaque tubes 1 ml de l'extrait.
- La dilution se fait par l'addition de 1 ml, 2 ml, 3 ml d'eau distillée, on a ainsi un gradient de concentration.
- A partir de la culture jeune, on ensemence les tubes, en mettant une goutte de la suspension bactérienne.
- Incubation à 37°C pendant 24 heures.

3-2-2- Sur milieu solide :

- On fait fondre la gélose Muller – Hinton dans le bain mari.
- Nous ajoutons 2 ml de l'extrait à l'aide d'une pipette graduée stérile à la gélose fondue à 45°C, de façon à avoir une gélose homogène, on doit bien remuer.
- Nous coulons le milieu sur les boites de Pétri, en respectant bien la zone stérile près du bec benzen.
- Nous laissons refroidir, puis nous ensemençons dans chaque boite un germe.
- A la fin, incubation à 37°C pendant 24 heures.



IV
Résultats
&
Discussion

IV- Résultats et discussion :

A- Résultats :

1- Test de diffusion :

Tableau 1 : représente la variation de la sensibilité de différents espèces selon la méthode de l'antibiogramme.

L'espèce bactérienne	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		
	L'extrait		Témoin
	Par l'eau distillée	Par méthanol	
<i>Escherichia coli</i>	–	–	IMIPENEM (31)
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	17	PRISTINAMYCINE (26)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20	11	PRISTINAMYCINE (27)
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	10	10	CEFOTAXIME (18)
<i>Proteus mirabilis</i>	13	–	IMIPENEM (20)
<i>Clostridium</i>	16	15	CEFOTAXIME (18)
<i>Bacillus</i>	14	16	IMIPENEM (34)
<i>Coliformes fécaux</i>	–	–	IMIPENEM (23)
<i>Streptocoques de groupe D</i>	16	20	IMIPENEM (40)

(-) : Résistante .

Pour *Escherichia coli* et les *Coliformes fécaux*, nous observons une croissance autour des disques de l'extrait donc aucune activité antibactérienne de l'extrait sur *E. coli* et les *Coliformes fécaux*. Mais pour les autres espèces, nous observons une zone d'inhibition autour des disques de l'extrait donc il y a une activité mais à des degrés différents.

* Pour le méthanol :

- Une sensibilité de :
 - *Pseudomonas aerogenosa* ($\phi=10$ mm)
 - *Staphylococcus epidermidis* ($\phi=11$ mm)
 - *Clostridium* ($\phi=15$ mm)
 - *Bacillus* ($\phi=16$ mm)
 - *Staphylococcus aureus* ($\phi=17$ mm)
 - *Streptocoques de groupe D* ($\phi=20$ mm)

* Pour l'eau distillée :

- Une sensibilité de :
 - *Staphylococcus aureus* ($\phi=10$ mm)
 - *Pseudomonas aerogenosa* ($\phi=10$ mm)
 - *Proteus mirabilis* ($\phi=13$ mm)
 - *Bacillus* ($\phi=14$ mm)
 - *Clostridium* ($\phi=13$ mm)
 - *Streptocoques de groupe D* ($\phi=16$ mm)
 - *Staphylococcus epidermidis* ($\phi=20$ mm)

Remarque :

On a utilisé plusieurs souches pour chaque germe ,mais toujours les mêmes résultats.

2- Test de dilution :

a- Sur milieu liquide :

Tableau 2 : la sensibilité des cocci en fonction de l'extrait de l'écorce du chêne-liège selon la méthode de dilution sur milieu liquide .

Dilution de l'extrait a méthanol par l'eau distillée	Espèces		
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
L'extrait brut		+	+
+ 1 ml		+	+
+2 ml		-	-
+3 ml		-	-

(-) : résistante

(+) : sensible.

- Pour *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* nous avons trouvé que la concentration minimale inhibitrice pour la première dilution (si nous ajoutons 1 ml d'eau distillée), et ceci par un prolongement de test sur *S.aureus* et *S.epidermidis* nous avons pu prouver l'activité bactéricide de cet extrait.

- Pour *Streptocoques de groupe D*, nous n'avons pas pu faire le test de dilution sur milieu liquide, parce que l'extrait était insuffisant.

Tableau 3 : La sensibilité des bacilles en fonction de la dilution de l'extrait selon la méthode de dilution sur milieu liquide.

Dilution de l'extrait a méthanol par l'eau distillée	Espèces					
	<i>E.coli</i>	<i>Porteus mirabilis</i>	<i>Clostri- dium</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Coliformes fécaux</i>	<i>Pseudo- monas</i>
L'extrait brut	-	-	-	-	-	-
+ 1 ml	-	-	-	-	-	-
+2 ml	-	-	-	-	-	-
+3 ml	-	-	-	-	-	-

(-) : résistante .

Escherichia coli, *Proteus mirabilis*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Coliformes fécaux* et *Pseudomonas* sont des espèces résistants à l'extrait, dont nous avons observés un trouble visible dans les tubes à essais pour toutes les dilutions utilisées.

b- Sur milieu solide :

Le test de dilution sur milieu solide se fait par incorporation de 1 ml de l'extrait à la gélose Muller - Hinton dans les boîtes de Pétri.

Tableau 4 : la sensibilité des souches vis-à-vis l'extrait selon la méthode de dilution sur milieu solide :

espèces \ Extrait (1ml)	La sensibilité
<i>E.coli</i>	-
<i>S. aureus</i>	+
<i>S.epidermidis</i>	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	-
<i>Bacillus</i>	-
<i>Coliformes fécaux</i>	-

(+) : présence de sensibilité.

(-) : absence de sensibilité.

Nous observons une pousse des colonies visibles et étalées sur toute la surface de la gélose pour les souches résistantes à l'activité antibactérienne de l'extrait (*E.coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Coliformes fécaux* et *Bacillus*).

Mais pour les souches sensibles (*Staphylococcus aureus* et *S. epidermidis*, il n'y a pas de pousse sur la gélose.

Pour *Streptocoques de groupe D*, on n'a pas fait le test de dilution sur milieu solide parce que la quantité de l'extrait était insuffisante.

Remarque :

Dans notre travail nous n'avons pas pu réaliser le test de dilution sur milieu solide et sur milieu liquide par l'extrait préparé avec l'eau distillée parce que cet extrait est insoluble malgré l'utilisation de l'éther de pétrole, ce dernier qui s'est rapidement évaporé.

B- Discussion :

La fin de ce siècle, avec le développement explosif de la technique informatique, voit naître des tentatives pour concevoir de façon rationnelle de nouveaux médicaments, mais l'efficacité de ces médicaments (antibiotiques) contre de nombreuses infections se décline successivement la cause principale et l'apparition de nombreuses résistances (souches multiples, mécanismes de résistances variés), et aussi des inconvénients liés aux effets secondaires, inefficacité des antibiotiques contre certaines infections (13).

C'est dans cet optique que s'inscrit notre travail durant lequel nous sommes fixés 2 objectifs :

- Rechercher une activité antibactérienne à partir de l'extrait brut de l'écorce du chêne-liège.
- Rechercher de souches bactérienne sensibles à notre extrait brut.

En ce qui concerne la méthode utilisée dans l'évaluation de l'activité. En effet, nous avons comparés l'effet selon trois méthodes, et de façon parallèle :

- Méthode de disque.
- Sur milieu solide.
- Sur milieu liquide.

On doit reconnaître que les résultats de notre travail montre une activité antibactérienne sur quelques souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptocoques de groupe D*).

S.aureus et *S.epidermidis* montrent la sensibilité avec le test de dilution sur milieu liquide et sur milieu solide et avec le test de diffusion, dont le diamètre de la zone d'inhibition est égale à 17mm et 10 mm successivement.

Mais pour *Clostridium*, *Bacillus*, *Streptocoques de groupe D* ont montrés une sensibilité seulement avec le test de diffusion avec un diamètre 15, 16 et 20 mm successivement.

Les souches de *Porteus* et *Pseudomonas* ont donnés une faible sensibilité à l'extrait brut dans le test de diffusion par rapport à l'antibiotique de référence.

Pour *Escherichia coli* et les *Coliformes fécaux* ne montre aucune sensibilité.

A partir de ces résultats on peut dire que :

- Selon le solvant employé, on observe une différence de l'activité antibactérienne de l'extrait vis-à-vis un germe donné, dont *Proteus mirabilis* sensible à l'extrait préparé avec l'eau distillée ($\phi = 13$ mm) et résistant à l'extrait préparé avec le méthanol ; *Staphylococcus aureus* montre une sensibilité à l'extrait préparé par l'eau distillée de diamètre de 10 mm et de diamètre de 20 mm à l'extrait préparé par le méthanol, et la même chose avec *Streptocoques de groupe D* ; *Bacillus* et *Staphylococcus epidermidis*.

- Au cours de notre travail, nous avons observés une variation de l'activité antibactérienne en fonction de la méthode d'étude employée ; pour *Clostridium* : il y a une sensibilité suivant le test de diffusion, par contre pour le test de dilution il n'y a aucune activité, la même chose pour *Bacillus*, *Streptocoques de groupe D*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aerogenosa*.

- Par comparaison des diamètres des zones d'inhibition les espèces bactériennes sont sensibles à des degrés différents par rapport à l'extrait ; par exemple selon le test de diffusion, l'extrait préparé avec le méthanol montre les résultats :

- *Staphylococcus aureus* ($\phi = 17$ mm)
- *Staphylococcus epidermidis* ($\phi = 11$ mm)
- *Bacillus* ($\phi = 10$ mm)
- *Streptocoques de groupe D* ($\phi = 20$ mm)
- *Pseudomonas aerogenosa* ($\phi = 10$ mm)

Ainsi que les *S. aureus* et *S. epidermidis* sont les plus sensibles parmi les espèces testés.

Remarque : Nous remarquons à travers l'analyse des résultats obtenus dans notre travail qu'il y a une sensibilité plus ou moins élevée vers les bactéries à Gram (+).

En effet, généralement l'extrait de l'écorce du chêne -liège montre une activité antibactérienne à cause de présence de certains composants chimiques bio-actifs.

Enfin, on peut considérés les résultats de notre travail primitifs et nous espérons que les études prochaines sur cette recherche confirment ces résultats par d'autres tests.

V

Conclusion

Conclusion :

La recherche dans le monde végétal de substances utilisables en thérapeutique, constitue toujours un domaine de recherche très fructueux.

D'après notre étude qui a été faite sur l'effet de l'extrait de l'écorce du chêne-liège sur différentes souches bactériennes, nous avons trouvés que notre extrait montre une activité antibactérienne sur certaines souches : *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptocoques de groupe D*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aerogenosa* ; mais pour *Escherichia coli* et les *Coliformes fécaux* il n'y a pas de sensibilité.

L'analyse de ces résultats montre la présence des substances bio-actives « principes actifs » ainsi la possibilité de produire des molécules médicamenteuses (antibiotiques) à partir de l'écorce du chêne-liège ce qui traduit que notre plante (*Quercus suber. L*) peut être considérée comme un espèce médical.

Tant que cette recherche est nouvelle, nous laissons la porte ouverte pour approfondir cette étude par la réalisation de CMI et CMB.

Liste des abréviations

ONPG : Orthonitrophénol- béta- D- galacto- pyranoside

VP : Voges- Proskauer

LDC : Lysine décarboxylase

TDA : Tryptophane désaminase

ADNase : Désoxyribonucléase

ADH : Arginine déshydrogénase

ODC : Ornithine décarboxylase

RM : Rouge de méthyle

Gs : gélose au sang

Gn : gélose nutritive

MH : Muller- Hinton

BN : Bouillon nutritif

BGP : Bacille Gram positif

BCP : Bouillon citrate peptoné

Bibliographie :

- 1- ANONYME ; Le chêne-liège ; rev. stat expri d'El Sughero. Espagne 1975 ; p 10
- 2- AVRIL J.V, DABERNAT. H, OENIS.F;
Bactériologie clinique ; 2ème édition ; mars 1992 ; p 10 –20- 22- 35- 36- 149- 192- 265- 335.
- 3- BERCHE.D ; GAILLARD. J ; SIMONET. M;
Bactériologie : Les bactéries des infections humaines ; 1989 ; p 24- 267- 297.
- 4- CAERS. G et coll; Principe d'antibiothérapie pour le praticien ; 1992; p 28- 29- 30.
- 5- COUTURE .B ; Bactériologie médicale ; 1990 ; p 39.
- 6- DELACHOU. X ; Petit guide panoramique des herbes ; miestlé ; 1977.
- 7- EBERLIN. T ; Les antibiotiques ; édition NATHAN ; mars 1994, p 28
- 8- I.D.F; Le chêne-liège et le liège ; décembre 1971 ; p 20.
- 9- LECHAT.P ; Pharmacologie médicale ; 4^{ème} édition ; 1982 ; p 110 - 120.
- 10- MICHEL. M.F; Notes préliminaires sur la présence de substances antibiotiques chez quelques essences forestières ; 1976 ; p 33- 151- 159.
- 11- NATIVIDEDE J.V ; subericulture ; édition française et l'ouvrage pulugais subicultura 1974 ; p 302.
- 12- SACCARDY. L ; Notes sur le chêne-liège et le liège en Algérie ; 2^{ème} édition ; 1987 ; p 274.(BRUGNATETLI,1787 ;GUILLEMONAT, 1942 ; BALDRCCO,1934 ; RIBAS MARQUES,1952).
- 13- SEVENET. T ; Plantes, molécules et médicaments ; édition Nathan 1992 ; p 7.

INTERNET :

- A- <http://www.amoringroup.Yahoo.com>
- B- <http://fr.encyclopedia.Yahoo.com/articles /na/na.2942po.html>
- C- <http://fr.Encyclopedia.yahoo.com/articles/so/so.400PO.Html>.

Annexe

ANNEX :

Tableau I – Principaux Effets Indésirables des Anti- Infectieux

	Réactions allergiques	Atteintes nerveuses		Atteintes rénales	Atteintes sanguines	Atteintes Hépatiques	Atteintes digestives
		8 ^e paire	Autres				
<i>β-lactamines</i>							
Pénicillines.....	++		+				
Céfalotine	+						
Céfaloridine.....	+			+			
<i>Aminosides</i>							
Streptomycine	+	+					
Kanamycine		++		+			
Gentamicine.....		+					
Tobramycine.....		+		±			
Chloramphénicol.....					++		
Thiamphénicol					+		
Tétracyclines.....				±(1)		±(2)	+
<i>Macrolides</i>							
Erythromycine.....	±					±	±
TAO.....							
Lincomycines.....						+	++
Synergistines.....						-	±
Rifampicine				(4)		+(3)	+
<i>Polypeptides</i>							
PolymyxineB.....			+	++			
Colistine			+	+			
Sulfamides.....	++			±	++		
Acide nadixique	±		±	+	+	+	
Nitrofurantoïne.....	+(5)		+		+		
Isoniazides.....			+			+(3)	±
Ethambutol.....			+				

- (1) produits altérés.
 (2) Femme enceinte.
 (3) Surtout l'association isoniazide rifampicine .
 (4) Prise discontinuée .
 (5) Atteintes pulmonaires.

Tableau II : Choix de L'antibiotique Suivant L'agent Infectieux

Agent infectieux	Antibiotique préférentiel	Autres antibiotiques utilisables
COCCI GRAM POSITIF : - <i>Streptocoques pyogènes, groupes A.B.C...</i> - <i>Streptocoques du groupe viridans</i> - <i>Streptocoques du groupe D ou Entérocoques</i> <i>Pneumocoques</i> - <i>Staphylocoques dorés :</i> a) ne produisant pas de pénicillinase..... b) produisant de la pénicillinase.....	Pénicilline G Pénicilline G avec ou sans streptomycine Ampicilline Pénicilline G avec streptomycine ou gentamicine Pénicilline G Pénicilline G, macrolides Pénicilline résistant à la pénicillinase, synergistines, léncomycine	Macrolides, lincomycine, synergistines Céphalosporines, Macrolides avec streptomycine Erythromycine lincomycine Céphalosporines, gentamicine, kanamycine Céphalosporines, gentamicine, tobramycine, vancomycine, rifampicine.
COCCI GRAM NEGATIF : - <i>Méningocoque</i> - <i>Gonocoque</i>	Pénicilline G Pénicilline G	Ampicilline, spectinomycine, sulfaméthoxazole + triméthoprime Tétracyclines, ampicilline, kanamycine.
BACILLES GRAM POSITIF <i>Bacillus anthracis (charbon)</i> <i>Lesteria monocytogenes</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium tetani</i> <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Pénicilline G Pénicilline G ou ampicilline Pénicilline G Pénicilline G Pénicilline G	Macrolides, tétracyclines Tétracyclines, Macrolides Macrolides, clindamycine Métronidazole Tétracyclines Erythromycine.
BACILLES GRAM NEGATIF <i>Salmonelle</i> <i>Shigella</i> <i>Escherichia coli intestinal</i> <i>Escherichia coli septicémique</i> <i>klebsiella pneumonia (friedlander)</i> <i>Enterobacter</i> <i>Serratia</i> Proteus : * <i>mirabilis</i>	Chloramphénicol, ampicilline Ampicilline Polypeptidique oral Ampicilline, gentamicine, tobramycine Gentamicine, céphalosporines, Gentamicine, tobramycine Gentamicine, Acide nalidixique Ampicilline	Sulfaméthoxazole + triméthoprime Polypeptidique oral, kanamycine orale Kanamycine oral. Colistine, céphalosporines, carbénicilline, acide nalidixique . Kanamycine, chloramphénicol, colistine Kanamycine, colistine, carbénicilline Tobramycine, carbénicilline Céphalosporines aminosides

Résumé :

Les recherches modernes ont montrée que l'action des plantes médicinales est due à quelques constituants élaborés par la plante .

Le chêne-liège est une plante supérieure résineux, son écorce possède une composition chimique très complexe, ce qui traduit la possibilité de présence de quelques substances bio-actives.

Dans notre travail, nous avons étudiés l'effet antibactérien de l'extrait de l'écorce du chêne -liège sur certaines souches bactériennes. Les méthodes utilisés sont : l'antibiogramme, et les tests de dilution.

Les résultats de notre étude montrent l'existence d'une activité anti-bactérienne de l'extrait sur certaines souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* , *S.epidermidis*,... etc.

Summary:

The modern researches showed that the action of the medicinal plants is owed to some constituent worked out by the plant.

The oak-cork is a resinous superior plant, his/her/its peel possesses a very complex chemical composition, what translates the possibility of some bio-active substance presence.

In our work, we studied the antibacterial effect of the excerpt of the peel of the oak -cork on certain bacterial stumps. The used methods are: the antibiogramm, and tests of dilution.

Results of our survey show the existence of an anti-bacterial activity of the excerpt on certain bacterial stumps: *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis*,...etc.

ملخص:

الأبحاث العصرية بينت أن فعالية النباتات الطبية ناتجة عن وجود بعض المكونات التي تقوم النبتة بتصنيعها .

شجرة البلوط نوع من الأشجار الراقية تحتوي على الصمغ (الريزين)، قشرتها ذات تركيبة كيميائية معقدة، هذا ما يترجم إمكانية وجود مواد بيوفعالة.

في عملنا قمنا بدراسة تأثير مستخلص قشرة شجرة البلوط على بعض الأنواع البكتيرية. الطرق المستعملة هي: طريقة الأقراص، وطرق التخفيف.

نتائج دراستنا بينت أن المستخلص له تأثير مضاد لبعض البكتيريا مثل:

S.epidermidis, *Staphylococcus aureus* , الخ.....

Mots clés :

Le chêne-liège ; l'écorce , extrait ; activité anti-bactérienne, infection, antibiotiques.