

République Algérienne Démocratique et Populaire الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de وزارة التعليم العالي
la Recherche Scientifique والبحث العلمي
Centre Universitaire de Jijel المركز الجامعي - جيجل
Institut des Sciences de la Nature معهد علوم الطبيعة

MÉMOIRE

*En vue de l'obtention du diplôme d'étude
supérieur en biologie moléculaire et cellulaire*

Option : microbiologie

Thème :

*Contribution à l'évaluation
antibactérienne d'un extrait
de la plante de sauge*

Présenté par :

- *BOUFAGHES Samir*
- *BECHIBCHI Mohammed*
- *BEDOUHENE Abdelouahid*

Encadré par :

M^{me} : ROULA Sagia

Année universitaire : 2000-2001

N° d'ordre :

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

« قالوا سبنا إنك لأمم لنا

إلا ما علمتنا إنك أنت

العاليم الحكيم »

صلى الله على من

Remerciement

❖ Nous tenons à formuler votre gratitude et notre profonde reconnaissance à l'égard de notre promoteur : M^{me} ROULA Sagia pour sa disponibilité et l'aide précieuse qu'elle nous a apporté en vue d'accomplir ce travail.

❖ Nous tenons aussi à remercier les membres de jury.

❖ Nous tenons à remercier tous les membres du laboratoire de Biologie, pour leurs aides ;

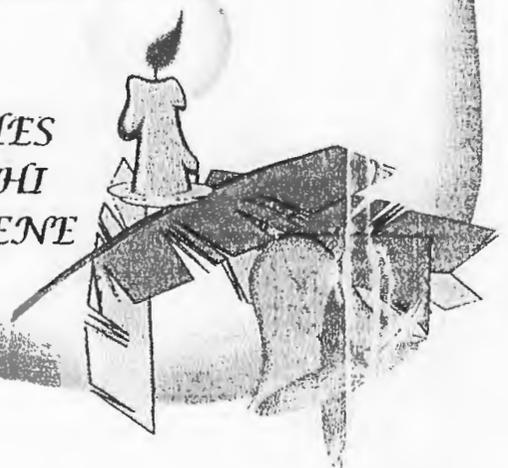
❖ Que M^{lle} Amel trouve ici reconnaissance pour son soutien dans notre travail.

❖ Que nos enseignants qui ont contribué à notre formation.

❖ Que les personnels de la bibliothèque du centre universitaire de Jijel.

Ainsi, nos sincères remerciements à nos collègues de promotion 2001, et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de notre travail.

S. BOUFAGHES
M. BECHIBCHI
A. BEDOUHENE

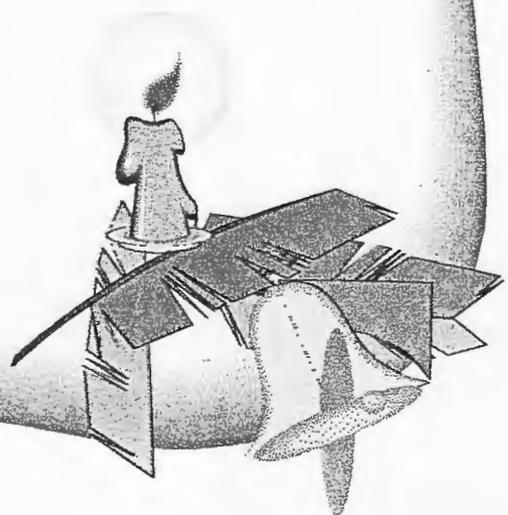


Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ceux qu'ont consacré leur vie pour faire mon bonheur, et qui sont les plus chères :

- *A ma mère qui est exemplaire pour son éducation son sacrifice son soutien morale*
- *A mes frères*
- *A mes sœurs*
- *A tous mes amis : Mohammed, Nasro, Adel, Tarek, A.Rahmane, Hakim, Marouan,...*
- *A tous étudiants 4^{ème} année option : Microbiologie et Biochimie*

Samir BOUFAGHES

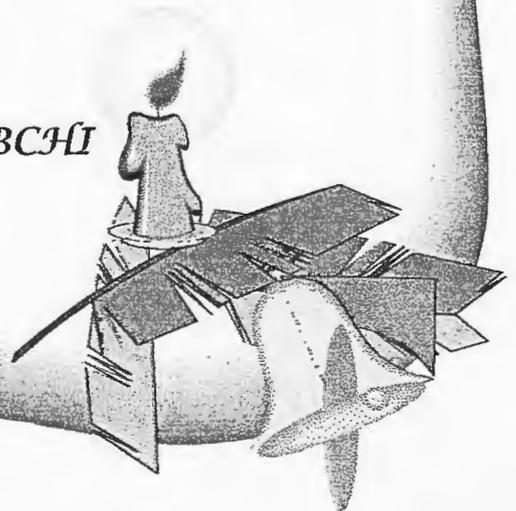


Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ceux qu'ont consacré leur vie pour faire mon bonheur, et qui sont les plus chères :

- *A mon père*
- *A ma mère*
- *A mes frères, sur tout Ismaïl*
- *À mes sœurs*
- *A mes oncles et mes tantes « Noura et Djouhar »*
- *A tous mes amis : Nasro, Samir, Abdelouahid, Mouloud, Laidi, Salim, Aziz, Tahar, Haroun, Tarik, Anter, Ahcen, ALI, Rachid,... sans oublier Farida*
- *A tous ceux que j'oublie*
- *A tous étudiants 4^{ème} année option : Microbiologie et Biochimie*

Mohammed BECHIBCHI

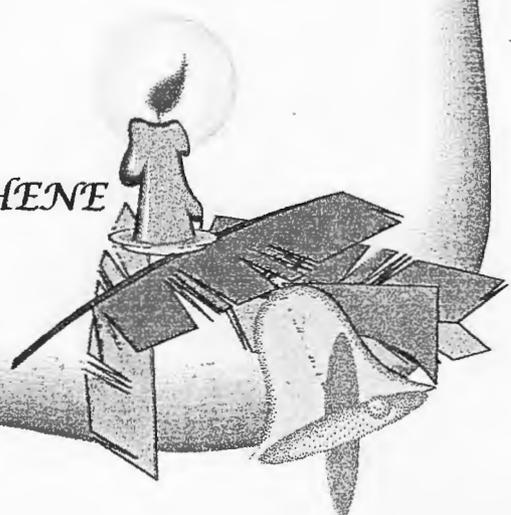


Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ceux qu'ont consacré leur vie pour faire mon bonheur, et qui sont les plus chères :

- *A ma mère qui est exemplaire pour son éducation son sacrifice son soutien morale*
- *A mon père pour le quel je garde une image très précieuse dans ma vie*
- *A mon frère Idriss et mes sœurs*
- *A le petit Houcine, la petite Chayma, et Kat koute Ziad tantes*
- *A toute ma famille*
- *A tous les amis, les collègues et les connaissances que dieu réalise leurs chère Souhaits.*

Abdelouahid BEDOUHENE



Sommaire

I - Introduction	1
II - Analyse bibliographique	2
1- Généralité sur les plantes médicinales	2
2- Les sauges	3
2-1- Généralité	3
2-2- Propriétés médicinales	3
2-3- Les Labiacées	4
a)- Les sauges annuelles	5
b)- Les sauges vivaces	5
c)- Les sauges aromatiques	6
3- Les antibiotiques	10
3-1- principaux antibiotiques classé selon leur mode d'action	11
3-2- La résistance	12
3-3- La sensibilité	12
3-4- L'antibiogramme	13
4- Les infections microbiennes	14
4-1- Rappel sur les pathogènes	14
4-2- Nature origine de la maladie bactérienne	14
4-3- Infection et maladie infectieuse	14
5- Les infections à cocci	17
5-1- Les Staphylocoques	17
5-2- Les Streptocoques fécaux	19
6- Les infections à bacilles	20
6-1- Escherichia coli	20
6-2- Klebsiella	20
6-3- Citrobacter	21

6-4- Enterobacter	22
6-5- Pseudomonas	23
6-6- Proteus	24
6-7- Clostridium	24
6-8- Les Coliformes fécaux	27
III - Matériels et méthodes	28
1- L'objectif	28
2- matériels et réactifs	28
2-1- Préparation des suspensions bactériennes	28
a)- Prélèvement des échantillons	28
b)- Isolement et identification des germes	29
2-2- Méthode d'extraction	30
2-3- Evaluation de l'activité antibactérienne	34
a)- Test de diffusion	34
b)- test de dilution	35
IV- Résultats	37
V - Discussion	43
VI- Conclusion	45
Bibliographie	
Annexe	

Introduction

I- Introduction:

L'homme s'est toujours intéressé aux plantes, qui ont constitué pour lui une source de nourriture (plantes comestibles), voire un moyen de guérir ses maladies (plantes médicinales).

Les traces de l'utilisation des plantes médicinales existent dans des textes chinois datant de plus de 5000 ans avant J.C.(13)

Quoi qu'il en soit, la recherche dans le monde végétale des molécules chimiques utilisables en thérapeutique, constitue toujours un domaine de recherche très fructueux.

Actuellement, l'industrie pharmaceutique mondiale se tourne également vers ces plantes. Des accords ont été conclus avec les états, mentionnant notamment le respect de certaines règles internationales relatives à la propriétés de cette biodiversité et des résultats obtenus. Des tris à haut débit permettent chaque jour de tester sur des cibles biologiques précises ; des milliers d'extraits et de molécules naturelles, pour débusquer de nouvelles (têtes de série) molécules pharmacologiquement actives qui constituent pour l'avenir un formidable creuset pour la découverte de nouveaux médicament (substances antibiotiques).

Ainsi, il existe de nombreuses plantes qui n'ont pas livré tous leurs secrets et les véritables constituants responsables de leur activité n'ont pas encore été démasqués.(13)

Sur le plan usage, plusieurs plantes médicinales dont « *Salvia officinalis* » ; plante très utilisée traditionnellement, possède des propriétés thérapeutiques, antiseptiques, et effectivement bactéricide.

L'objectif de notre travail est de vérifier ce qui a été rapporté en littérature notamment, s'il existe une activité antibactérienne vis à vis de l'extrait de cette plante.

Analyse

Bibliographique

II- Analyse bibliographique :

1- Généralités sur les plantes médicinales :

Les végétaux ont toujours été employés, de manière empirique, à des fins thérapeutiques, par voie externe ou interne. On soupçonne, dès la préhistoire, l'utilisation des plantes médicinales par l'homme. Des découvertes archéologiques, laissent à penser que l'achillée, la rose trémière ou la centaurée tenaient une place importante dans la pharmacopée traditionnelle des populations locales.(18)

Leurs propriétés médicales sont dues à l'existence d'éléments actifs, qui, lorsqu'ils sont identifiés, sont reconstitués par synthèse.

La disparition des connaissances traditionnelles et de certaines flores dont les propriétés sont encore inconnues peut menacer Les progrès pharmaceutiques.(18)

A la fin de ce xx^e siècle, les substances naturelles, dont les plantes constituent encore la source principale, 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 parties de molécules naturelles prises comme « têtes des séries »...(11)

Ainsi, les remèdes à base des plantes présentent un immense avantage par rapport aux traitements chimiques.

A l'heure actuelle, 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 l'hémisynthèse de cette molécule, ou sa production par culture. Une fois les études chimiques, biologiques et toxicologiques soigneusement exécutées, la mise en forme médicamenteuse permet la mise sur le marché.(11)

2- Les sauges :

2-1- Généralités :

Plante annuelle, vivace ou arbustive (espèces décoratives, médicinales et aromatiques). Le nom du genre « Salvia » est dérivé du latin « Salvare » (guérir) ; attribué à cause des vertus thérapeutiques de la plupart des sauges. (14)

On compte plus de 700 espèces de sauges dans le monde, provenant principalement de la méditerranée et du sud des Etats-Unis et de Mexique. Beaucoup sont de tendres vivaces fleurissant dès la première saison à partir de graines. Sous nos climats, la plupart sont cependant cultivées comme annuelles.(19)

2-2- Propriétés médicinales :

La sauge possède des actions importantes dans la thérapeutique dont :

Antiseptique :

- Contre les maux de gorge-gargarisme.
- Contre la laryngite-gargarisme.
- Contre les infections buccales-gargarisme.
- Contre les coupures, les brûlures, les blessures mineures-pommade ou décoction.
- Contre les piqûres d'insecte-cataplasme.

Antispasmodique : infusion.

Antisudorifique : infusion.

Apéritive : Infusion avec un Zeste de citron.

Bactéricide : recommandée dans les marinades de gibiers pour combattre les toxines de putréfaction.



La sauge purifie aussi l'eau contaminée par certaines bactéries. Lorsque la qualité de l'eau est douteuse, on peut la faire bouillir avec une pincée de sauge avant de la boire pour éviter les coliques et la diarrhée .

Calmante : Réduit la tension nerveuse et les réactions allergiques d'origine nerveuse comme l'eczéma et le psoriasis.

Céphalique : infusion-diminue les maux de tête.

Digestive : infusion-excellente pour aider à assimiler les aliments lourds qui peuvent causer des douleurs intestinales, des ballonnements, des colites et des maux de ventre.

Energétique : infusion- à prendre en infusion le matin pendant 10 jours comme une cure.(17)

2-3- Labiacées :

Famille de 200 genres et 3000 espèce, cosmopolite, principalement méditerranéenne. Herbes vivaces ou arbustes, parfois arbes (Hyptis) parfois plantes grimpantes, à tiges généralement 4-angulaires, à feuilles simples, opposés décussées, aromatiques.

Adaptations xérophiles, fréquentes.(6)

* **Salvia :** sous arbrisseau de 20 à 60 cm de haut, à racines ramifiées et lignifiées. A tiges quocodrangulaire dressées et très ramifiées, blanche, tomenteuses. Les feuilles 3 à 10 cm de long et 1,5 cm de large, sont opposées, ovales, allongées, gris, vendatre et fentrées.(9)

La fleur, bleu-clair, a bleu- violet, ont 2 à 3 cm de long.

On peut distinguer trois sortes de sauge, les sauges annuelles cultivées pour leur spectaculaires grappes de verticilles de fleurs à corolle bilabiée, les sauges annuelles et vivaces à fleurs bleues ou violet, plus délicates et les sauges aromatiques, dont les feuilles sont utilisées comme condiments.

a)- Les sauges annuelles :

1)- *Salvia splendens* :

Ou sauge éclatante (Scarlet Sage), la plus cultivée des sauges. native du Brésil, généralement employée pour les massifs ; floraison continue jusqu'aux gels.

Feuilles ovales, dentées, vert assez claire ; fleurs dissimulées sous bractées rouge vif très denses.

Tellement populaire que plusieurs variétés ont été introduites :

- « BLAZE OF FIRE » ; fleurs blanches ;
- « CLEOPATRA » ; fleurs saumon ;
- « FIRE WORKS » ; fleurs striées de rouge et blanc ;
- « HARBINGER » ; grosses fleurs rouges ;
- « LAVENDER LOVE » ; fleurs lavande ;
- « WHITE FIRE » ; fleurs blanc crème. (19)



2)- *Salvia farinacea* :

Ou sauge farineuse (Mealy- Cup Sage) vivace cultivée en annuelle. Nombreuses tiges érigées. Hauteur 45 cm à 1 m, étalement 25 à 30 cm. Grosses feuilles ovales ou lancéolées vert clair ; longs épis de fleurs verticillées tubulaires ; floraison aérée.

Variétés principales :

- « ALBA » ; fleurs blanches ;
- « BLUE BEDDER » ; fleurs bleu- violet foncé ;
- « VICTORIA » ; fleurs bleu- violet. (19)

b)- les sauges vivaces :

1)- *Salvia x superba* :

Ou sauge violette, synonyme de *S. virgeta*, variété « Nemorosa » hybride aux origines mal connues.

Vivace de courte durée (3 ou 4 ans), feuille vert, fleurs en épis très longs, violet- pourpre ; floraison en été.

Les variétés connues :

« LUBECA » ; fleur similaire mais plant compact ;

« MAY NIGHT » ; fleurs violet profond ;

« OSTRIESLAND » ; fleurs bleu- violet foncées.

Propagation par division en automne ou au printemps. (19)

2)- *Salvia coccinea* :

Ou sauge du texas. Vivace de courte durée (3 ou 4 ans) ; hauteur 60 à 80 cm. Fleurs en épis moins denses que *S. purpurea* ; fleurs rouges ;

« RED FOX » ; fleurs rouge- orangé;

« LADY IN RED » ; fleurs rouge violacé. (19)

3)- *Salvia azurea* :

Ou sauge bleue. Vivace fragile, vit à l'état sauvage dans les prairies du sud des Etas-Unis ; cultivée jusqu'en Nouvelle- Angleterre.

Fleurs bleu ciel, fleurissant à la fin de l'été et au début de l'automne.

D'autres sauges vivaces sont cultivées en Europe seulement et sont peu représentées en Amérique, à cause de leur manque de rusticité.

C'est le cas de *Salvia patens* (ou sauge gentiane), et aussi des delphiniums, des myosotis, ... etc, et qu'elle associe souvent à des blancs ou des jaunes pâles. (19)

c)- Les sauges aromatiques :

Qualités officinales et culinaires ainsi que magnifique feuillage ornemental toute la saison.

1)- *Salvia rutilans* :

Ou sauge ananas (Pineapple Sage). Vivace seulement dans les lieux sans gel, ses feuilles sont parfumées à l'ananas. (19)

2)- *Salvia sclarea* :

Ou sauge sclarée, Toute-Bonne (Clary Sage). Bisannuelle facilement reproduite par graines en Europe ; dont les fleurs blanc-bleuté disparaissent sous des bractées en panicules érigés ; les feuilles sont laineuses, grandes, en forme de cœur. La sauge sclarée a été utilisée énormément dans le jardin pour ses propriétés curatives ; on fait entre autres une pommade pour les yeux avec les fleurs. On les utilise aussi pour réaliser une essence fixative entrant dans la composition des parfums. Les feuilles sont utilisées pour aromatiser les vins, les sauces, les pâtisseries. (19)

3)- *Salvia officinalis* :

Ou sauge commune, sauge du jardin (Garden Sage). Plante ligneuse arbustive, ne subsistant habituellement pas aux gelées ; fleurissant tôt au printemps ; feuilles oblongues, ridées, laineuses des deux côtés, dont la couleur gris-vert a donné le nom « vert sauge » dans la palette de couleurs ; fleurs pourpres ou blanches, peu imposantes ; utilisé en cuisine pour assaisonnement.

Quelques variétés sont plus décoratives que le type :

Salvia officinalis « Icterina » ; arbuste touffu aux feuilles gris-vert panachées de vert pâle et de jaune ;

S. officinalis « Aurea » (ou sauge dorée) ; magnifiques feuilles dorées ;

S. officinalis « Purpurea » ; feuillage pourpre ;

S. officinalis « Tricolor » ; feuille gris-vert avec les bouts blanc-jaunâtre, pourpre-rosé chez le jeune feuillage. (19)

Toutes ces variétés conservent les mêmes propriétés culinaires que la sauge commune.(13)

- **Partie à utilisé :** les feuilles et sommètes fleuries.
- **Période de récolte :** la plante est plus riche en principe actif en été.(15)
- **Noms vernaculaires :** souaq ennebi, mofaça, Kheyet ledjrah, naama salma, tazcourt, agourim.(9)
- **Odeur :** balsamique.

a)- Constituants :

Toutes les espèces de la sauge contiennent en quantités variables, dans les feuilles, des substances très irritante.

*** Huile essentielle :**

(1à 2,5%) constituée d'environ 35 à 60% de thuyone (mélange d' α - et de β - thuyones), d'environ 20% de mono terpènes (surtout du cinéole et du bornéol libre et estérifié, mais aussi du camphre) et de composés mineurs, dont 8 à 15% sont des sesquitérpenes ; tanins (3 à 7%) et des composés phénoliques dont l'acide rosmarinique (tanin des labiées) ; des diterpènes de type abiétane comme l'acide carnosique et son dérivé le carnosol (picrosalvine), du rosmanal, du safficinolide etc..., des flavonoïdes (1 à 3%) (lutéoline, 5- méthoxysalvigénine...) et des triterpènes (acide oléanolique et dérivés).(13)

b)- Indications thérapeutiques :

En médecine traditionnelle, *S. officinalis* à des propriétés oestrogéniques ; elle est utilisée pour arrêter la lactation, en raison de ses propriétés antigalactogènes. Une activité hypoglycémiant est décrite, ainsi que des propriétés emménagogues, probablement en liaison avec la présence d'huile essentielle à thuyone (Cétone monoterpénique que l'on rencontre

aussi chez le thuya, l'absinthe et la tanaïsie, plantes qui ont une réputation analogue et dont les huiles essentielles sont même abortives et considérées désormais comme toxiques).

Bien qu'elle ne soit ni cholérétique, ni cholagogue, elle est quelques fois utilisée dans ce but en mélange avec d'autres drogues, pour les problèmes liés à une digestion difficile (activité de certains diterpènes amers).

Par ailleurs, elle est très utilisée pour ses propriétés antioxydantes, retardant ou inhibant le rancissement des corps gras, et pour ses propriétés antiseptiques. Son huile essentielle est effectivement bactéricide vis à vis des germes Gram (+) et Gram (-).(13)

c)- Systématique de *Salvia officinalis* :

- Règne : Eucaryotes
- Sous/ règne : Végétaux
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous/embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Sous/classe : Asteridées
- Ordre : Labiales
- Famille : Labiacées
- Genre : *Salvia*
- Espèce : *Salvia officinalis* (6,3)

3- Les antibiotiques :

L'antibiotique est un agent antibactérien à action spécifique qui inhibe la croissance ou détruit les bactéries.(16)

Dans la majorité des traitements, l'antibiotique est utilisé pour aider le patient, c'est à dire éviter une dissémination du foyer infectieux en attendant que les défenses de l'organisme se chargent de détruire le germe. Une action bactéricide n'est envisagée que dans les cas graves, soit parce qu'un organe vital est atteint (endocardite), soit lorsque le germe envahit l'organisme (septicémie), soit parce que les défenses de l'organisme sont diminuées (opération chirurgicale lourde, Immunodéficience...).(4)

L'efficacité d'un antibiotique contre un micro- organisme peut être fournie par la concentration minimale inhibitrice (CMI).

La CMI est la concentration la plus faible d'un antibiotique capable d'empêcher le développement d'un micro- organisme particulier.

La concentration minimale létale ou bactéricide (CML) ou (CMB) est la concentration la plus faible capable de tuer les micro- organismes (les bactéries).(12)

3-1- Principaux antibiotiques classés selon leurs mode d'action :

Mode d'action	Antibiotique
1° - Inhibition de la synthèse de la paroi	- Pénicillines- Vanconycine - Bacracines - Ristocetine - Novobiocine - Griseoflavine - Cycloerines – Fosfomycine
2°- Action sur la membrane	- Polypeptides basiques - Polymexine - Bactéracine
3°- Réplication de l'ARN	- Thyrothricine - Mitomycine - Quinolone
4°- Transcription de l'ADN	- Actinomycine - Novobiocine
5°- Traduction de l'ARN (synthèse des protéines) a) Inhibition de la synthèse b) Anomalie dans la lecture du code.	- Macrolides- Synergistimes - Lincomycine - Tetracycline - Chlorophenicol - Fucidine - Nitromidazoles - Aminocides

3-2- La résistance:

Une souche bactérienne est dite résistance à un antibiotique donné, quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce. Et on distingue la résistance naturelle et acquise.(8)

***- Les mécanismes de résistance :**

Divers mécanismes permettent aux bactéries d'être résistantes aux antibiotiques. Le germe peut détruire l'antibiotique et donc le rendre inefficace. Ce mécanisme joue dans les cas de résistance aux B-lactamines dues à la présence d'une B-lactamase qui hydrolyse le noyau B-lactame. C'est la principale cause de résistance aux B-lactamines.

Par ailleurs, le germe peut tolérer la présence de antibiotique ; il y parvient par divers moyens :

- Par non pénétration (impermeabilité naturelle de l'enveloppe de la bactérie chez les pseudomonas), ou modification des porines chez les entérobactéries ;

- Par modification de la relation site-antibiotique (résistance aux macrolides) ;

- Par modification du rapport excrétion-pénétration de l'antibiotique (tétracycline).(4)

3-3- Sensibilité :

Cette recherche peut avoir plusieurs buts, tous d'abord, pour sélectionner les antibiotiques les plus actifs. Il est indispensable de mesurer cette activité. Ensuite, au cours du traitements des maladies infectieuses, il est capital de connaître l'antibiotique le plus efficace, donc de le tester vis à vis du genre responsable. Enfin il est important de déterminer les concentrations

nécessaires et suffisantes pour éliminer un agent infectieux d'un organisme malade. (20)

3-4- L'antibiogramme :

C'est une technique de laboratoire qui détermine la sensibilité d'une bactérie à l'égard d'un antibiotique. Un antibiogramme permet la prescription d'un antibiotique adapté.

Un antibiotique possède deux mécanismes d'action :

- **Action bactériostatique** : l'antibiotique arrête la multiplication des germes
- **Action bactéricide** : l'antibiotique tue les germes. (20)

4- Les infections microbiennes :

4-1- Rappel sur les pathogènes :

- Une maladie infectieuse chez un hôte résulte d'un changement de la structure ou de la fonction de l'hôte provoquée par un micro-organisme.

- Les micro-organismes capables de provoquer une maladie chez leur hôte, sont considérés comme pathogènes.

- La virulence est une mesure quantitative de la capacité du pathogène à provoquer une maladie.

- Les caractéristiques des bactéries capable d'infecter un hôte et d'échapper au système immunitaire sont appelées facteur de virulence.

- Les microbes qui normalement colonisent un hôte sans provoquer de lésion sont appelés microbes commensaux.(10)

4-2-Nature et origine de la maladie bactérienne :

Les maladies bactériennes peuvent être chronique, comme la tuberculose, ou aiguës, comme intoxication alimentaire par les staphylocoques.

Les symptômes de la maladie dépendent de l'origine et du site de l'infection « endogène ou exogène », de la capacité de l'organisme à échapper au système immunitaire et des produits toxiques qu'il produit.

Certaines bactéries sont capables de provoquer plusieurs maladies différentes, d'autres peuvent induire différents symptômes durant la maladie.(10)

4-3-Infection et maladie infectieuse :

a)- L'infection :

Au sens large représente le contact entre l'homme et ces micro-organismes, qu'il y ait ou non maladie au sens clinique, c'est -à-dire présence de symptômes, de manifestations pathologiques.

La contamination peut se faire a différentes âges :

- Dans les premiers jours de la vie : avec la flore bactérienne commensal des cavités naturelles.
- Chez l'enfant, l'adulte jeune : avec les micro-organismes des voies respiratoires, comme les *Streptocoques*, *Pneumocoques*...

L'âge auquel survient cette première rencontre dépend des conditions d'environnement, du mode de vie, du niveau socio-économique.(1)

***- La réaction de l'hôte :**

Est une composante primordiale. Elle fait appel à toute une série de mécanismes complexes, immunologiques ou non, qui ont pour but de reconnaître le caractère étranger des micro-organismes, de les neutraliser ou de composer avec eux selon les cas. Cette réaction a un double aspect :

- Bénéfique, de neutralisation, de protection à court terme et à long terme au sens de l'immunité,
- Nocif, lorsque cette réaction de l'organisme n'est plus exactement adaptée.(1)

***- L'infection maladie :**

La plupart des infections n'ont donc pas de traduction clinique et en ce sens, l'infection maladie est un événement rare. La survenue d'une expression clinique, infection maladie, est due à plusieurs facteurs :

- Virulence particulière du micro-organisme,
- Facteurs génétiques encore mal connus,
- Densité de l'inoculum infectieux et mode d'introduction,
- Etat immunitaire de l'hôte.

Les manifestations pathologiques sont dues :

- A des toxines pour les bactéries, parfois exclusivement comme dans le choléra, le tétanos, sans lésion anatomique directe,

- A la multiplication du micro-organisme comme dans les infections à bactéries extracellulaires (*Staphylocoque*, *Pneumocoque*),
- Enfin à la réaction de l'hôte.(1)

b)- Transmission, contagion :

La transmission survient à partir des réservoirs des micro-organismes :

- Air, eau, sol,
- Animaux (zoonoses),
- Homme (transmission interhumaine). Cette transmission survient par différentes voies : respiratoire, manuelle (infections nosocomiales), sexuelle, sanguine.

Ainsi, à côté de l'infection maladie individuelle existe un aspect collectif des maladies infectieuses. Sa prise en compte est primordiale dans le domaine de la prévention, individuelle et collectif, qui est du domaine de la santé publique. Elle fait appel en plus des données techniques, aux relations interindividuelles, au mode de vie et aux comportements.(1)

5- Les infections à cocci :

5-1- Les *Staphylocoques* :

Il s'agit des germes très répandus dans la nature (air, eau, sol). Les staphylocoques en particulier les espèces *Staphylococcus aureus*, et *Staphylococcus épidermidis* font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des porteurs asymptomatiques, cependant ces souches peuvent être à l'origine d'auto-infections ou contaminer d'autres individus sont « non porteur ».

Les staphylocoques peuvent être trouvés particulièrement dans les fosses nasales antérieures (*S. aureus* 30-40%, *S. épidermidis* 30-100%), de la peau (*S. épidermidis* 85-100%) et surtout des zones chaudes et humides de celle-ci.(2)

a)- *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus peut être à l'origine d'infections cutanées superficielles ou profondes.

***- L'infection superficielle :**

Se traduit par un impétigo, un onyxis, ou une folliculite.

***- L'infection profonde :**

Est représentée par des abcès intra folliculaire de toute la gaine du poil appelées furoncles, ou par des infections des canaux des glandes sudoripares appelées thidrosadénites.

L'anthrax est un conglomérat de furoncles et les *Staphylococcies* malignes de la face en est une localisation particulièrement grave, furunculose à des facteurs déclenchant : diabète, surménage...

On observe aussi des infections cutanées associées à la présence de cathéters ainsi que des pyodermies ou des eczémas sur infectés par *S. aureus*, mais sans signes cliniques d'infection.

Des taches scarlatiniformes font partis de syndromes de choc toxique lié à la présence de souches productrices de la toxine du syndrome de choc toxique ou de certaines entéro-toxine, des raches sont aussi liés à la présence de toxine pyogène.

Le syndrome de lyell *Staphylococcique* ou maladie de Ritter von-rittershain ou syndrome des enfants ébouillantes est à la sécrétion d'une toxine staphylococcique, l'exfoliatine ou épidermolysine, qui provoque la desquamation de la couche superficielle de l'épiderme.

Au niveau des muqueuses *S. aureus* peut être impliqué dans des phlegmons, des l'amygdales, des sinusites ou des otites parfois récidivantes.(2)

b)- *Staphylococcus epidermidis* :

Il peut être responsable d'infections de prothèses vasculaires ou articulaires, de valves cardiaques, de valves de dérivation du LCR. Il est également impliqué dans la survenue des péritonites consécutives à des dialyses péritonéales, d'endocardites subaiguës chez les drogués, d'endophtalmies et d'infections diverses particulièrement chez les immunodéprimés.

L'aptitude de cette espèce à coloniser la surface des polymères (cathéters, prothèses) et les cellules seraient liées à l'abondance d'une capsule polysaccharidique produite par ce germe.

C'est un germe coagule négatif, nitrate réductase (+), D-mannitol (-) est trouvé de façon constante sur la peau ou les muqueuses des orifices naturels.(2)

5-2- Streptocoques fécaux :

Hôtes habituels des intestins de l'homme et des animaux, sont considérés comme les germes témoins de contamination fécale les plus faibles. Leur présence dans une eau de consommation est l'indication formelle d'une contamination récente (leur survie dans l'eau étant de courte durée) et donc de la présence quasi certaine de germes pathogènes : *Salmonelles, Vibrio cholérique* ...(5)

6- Les infections a bacille :

6-1- *Escherichia coli* :

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

Certains souches d'*E. coli* sont virulentes, capable de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certains espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales.

D'autres souches appartiennent à la flore commensale et peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies.(2)

*- Caractères bactériologiques :

E. coli est une entérobactérie : c'est à dire qu'il s'agit d'un bacille à G(-), oxydase (-), aéro-anaérobie, cultivant rapidement sur milieux ordinaires, fermentant le glucose avec production de gaz possédant une nitrate réductase.(2)

*- Epidémiologie :

Les souches bactériennes responsables d'entérites sont transmises par ingestion à partir de l'environnement (eau, aliments) contaminé par les selles des malades ou des porteurs.(2)

6-2- *Klebsiella* :

Les *Klebsielles* sont des *Entérobactériaceae* toujours immobiles, possédant généralement une capsule et fermentant de nombreux glucides.

Elles ne possèdent ni ODC, ni ADH, ni tryptophane- desaminase (TDA), ni lipase et ne produisent pas l'H₂S.

***- Caractères bactériologiques :**

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

K. pneumoniae est VP(+); ONPG (+), LDC (+) et attaque le glucose en produisant beaucoup de gaz, uréase (-).(2)

***- Pouvoir pathogène :**

K. pneumoniae est l'espèce la plus souvent rencontrées. Elle est fréquemment isolées des eaux, du sol et des végétaux. Elle est présente dans la flore fécale de l'homme et est souvent commandée de la peau, des muqueuses et des voies respiratoires.

Les malades s'infectent soit avec leurs propres souches, soit avec des souches responsables de petites épidémies hospitalières, elles sont alors manu portées de malade à malade.

K. pneumoniae, isolée principalement de branche pneumopathie aiguë ou subaiguë, mais aussi d'infections urinaires, hépato- biliaires ou de pus divers.

En raison du terrain débilite sur lequel elle se développent, les septicémies a *Klebsiella* ont un pronostic très sévère.(2)

6-3- Citrobacter :

Le genre rassemble trois espèces d'*Enterobacteriaceae* qui ont les caractères suivants : citrate (+), fermentation du glucose avec gaz, mobilité (+), test ONPG (+), réaction de VP négative et absence de LDC.

Il existe de nombreuses souches atypiques de *Citrobacter*. Celles qui sont en PG négatif et produisent l'H₂S peuvent être confondue avec les

salmonella. Certains souches peuvent être H₂S négatif ou citrate de simmons négatif, ou agazogènes.

***- 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. Ils peuvent être isolés occasionnellement d'urines ou des suppurations diverses.(2)

6-4- Entérobacter :

Les *Enterbacter* sont des *Entérobacteriaceae* VP (+), voisines des *Klebsiella* dont elles se distinguent par leur mobilité, par la présence d'une ODC, parfois d'une ADH et par l'absence d'uréase. La TDA, la Dnase, la production d'indole et H₂S sont négatives, sont souvent très résistants aux antibiotiques.(2)

***- Pouvoir pathogène et épidémiologie :**

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

Les bactéries pathogènes opportunistes peuvent être responsables de septicémies de méningites, d'infections urinaires, d'infections néonatales et de suppurations diverses.(2)

***- Caractères bactériologiques :**

Les caractères biochimiques qui permettent d'identifier *Entérobacter aerogenes* : ADH (-), LDC (+), ODC (+), sorbitol (+), uréase (-) pigment jaune (-).

6-5- *Pseudomonas* :

Les germes pathogènes pour l'homme, les bacilles à gram (-) aérobies résident dans l'environnement, particulièrement les lieux humides et possèdent une grande capacité d'adaptation à des conditions de vie défavorables, caractères qui déterminent l'épidémiologie. Le pouvoir pathogène est opportuniste (particulièrement celui de *P. aeruginosa*) il dépend :

- Des conditions environnementales chez le patient (facteur de risque).
- Des facteurs de virulence dont on commence à percevoir que la synthèse de plusieurs d'entre eux (dont l'exotoxine A, l'alginate, dans la mucoviscidose) est augmentée par la perception, chez *Pseudomonas aeruginosa*, des signaux environnementaux, dont ceux émis par l'accumulation des cellules bactériennes.

Les *Pseudomonas* sont relativement résistants aux antibiotiques et les connaissances sur le mécanisme moléculaire de leur pathogénicité permettent d'envisager de nouveaux moyens thérapeutiques (inhibition de l'adhérence de la synthèse de facteurs de virulence).

*- Habitat et épidémiologie :

P.aeruginosa est un germe ubiquitaire très répandu dans l'environnement, c'est un saprophyte du sol humide et des plantes qui sont la source de la contamination animale et humaine. De nombreux légumes frais (tomate, vityx, divers) sont contaminés superficiellement avec des bacilles pyocyaniques d'origine tellurique. Cela explique que la bactérie soit souvent retrouvée dans le tube digestif et sur les endroits humides du revêtement cutané (périnée creux axillaire) des sujets sains.

P. aeruginosa est un bacille à Gram (-), de 1,5 à 3 µm de long et 0,5 à 0,8 µm de large, il est très mobile, a ciliature polaire, aérobies stricts, oxydase positive.

Il croît très facilement sur des milieux ordinaires, car il a très peu d'exigences nutritives. A partir des prélèvements cutanéomuqueux contenant une flore polymorphe il peut être nécessaire d'isoler les bacilles pyocyaniques sur milieux sélectifs additionnés de cétrémides ou sur milieu de type SS.

6-6- *Proteus* :

Les *Proteus* sont des entérobactéries responsables de nombreuses infections chez l'homme, en particulier chez les malades hospitalisés. Ils constituent en fait un groupe des bactéries génétiquement très hétérogènes.

Les *Proteus* sont responsables de nombreuses infections, en particulier chez l'hôte immunodéprimé : 10-20% des infections nosocomiales sont en effet dues à ces germes. Près de 70 à 90% des souches isolées appartiennent à l'espèce *P. mirabilis*.

***- Epidémiologie :**

Les *Proteus* 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.

Ces bactéries ont la capacité d'acquérir facilement de nombreux caractères de résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques expliquant qu'elles soient souvent sélectionnées dans le tube digestif des malades soumis à une antibiothérapie. C'est également la raison pour laquelle ces bactéries responsables d'infection nosocomiale.

6-7- *Clostridium* :

Ce sont des bacilles à G(+) sporulés, anaérobies stricts.

L'observation de la spore n'est pas toujours évidente, et pour mettre celle-ci en évidence on utilise les propriétés conférées par cette structure :

- résistance au chauffage à 70°C durant 10mn .
- résistance à l'éthanol (95%) à 45°C ou utilisation des milieux favorisant la sporogénèse.(2)

***- Habitat :**

La plupart des espèces de *Clostridium* sont des bactéries telluriques, mais sont également isolées dans l'intestin et les selles de l'homme et de divers animaux, ainsi la présence de *Clostridium* dans les eaux ou les aliments par exemple signe en général une contamination fécale.

***- Caractères bactériologiques et physiopathologiques :**

a)- *Clostridium botulinum* :

Bacille à G(+) aux extrémités arrondies, il est mobile, et n'est pas capsulé.

Cette bactérie responsable d'une neuro-intoxication.

Le botulisme le plus souvent la maladie est consécutive à l'ingestion de toxine préformée dans un aliment contaminé par cette espèce. Cette maladie cosmopolite est redoutable.

On distingue deux formes de botulisme : l'intoxication et la toxoinfection. Chez certains nourrissons. *C. botulinum* s'implante dans l'intestin et libère la toxine synthétisée in situ.(2)

b)- *Clostridium difficile* :

Bacille à Gram (+), anaérobie strict, donnant des spores ovales subterminales déformantes. La majorité des bactéries isolées de produits pathologiques sont mobiles grâce à une ciliature péritriche.

Chez quelques souches, du fimbriae ou une capsule ont été mis en évidence, mais leur rôle dans la pathogénicité reste discuté.

Leurs propriétés d'adhésion restent à confirmer.(2)

C. difficile est l'agent étiologique des colites pseudo- membraneuses (CPM) ; il est également responsable de nombreux cas de diarrhées ou de colites consécutifs à une antibiothérapie.

Ces pathologies sont dues à la production et à l'action de deux toxines dans le côlon : une entérotoxine et une cytotoxine.

c)- *C. perfringens* :

Bacille Gram (+) ; trapus à bords parallèles et a bouts carrés immobiles. Isolés ou en courtes chaînettes ; et on observe une capsule dans les produits pathologiques.

C. Perfringens connu comme l'agent des gangrènes gazeuses ou des septicémies du post – partum, isolé actuellement lors d'intoxication alimentaires d'infections tissulaires ou systémiques.(2)

d)- *C. tetani* :

Bacille Gram (+), mais qui perd facilement ce caractère tinctorial, relativement long et fin. Il a une spore terminale lui donnant classiquement un aspect en tête d'épingle.

Le germe est extrêmement mobile par une ciliature peritriche.

C.tetani anciennement appelé bacille de Nicolaïer, sporulé libère une exotoxine neurotrophe entraînant une toxi-infection redoutable : le tetanos. Malgré l'existence d'un vaccin efficace, le tetanos n'est pas une maladie rare.(2)

6-8- Les Coliformes fécaux :

En microbiologie alimentaire, on appelle les coliformes, les entérobactéries fermentant le lactose et qui ne sont jamais très entéropathogènes. Cependant lorsqu'ils sont en nombre élevé, ils peuvent provoquer les intoxications alimentaires.

Il s'agit des genres *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*.

On appelle coliformes thermotolerants ou *Coliformes fécaux* les coliformes capable de se développer à 44°C; il s'agit essentiellement d'*E-coli*; hôtes habituels des intestins de la contamination fécale, leur présence dans l'eau de consommation est l'indication formelle d'une contamination récente.

*Matériels et
Méthodes*

III- Matériels et méthodes :

1- L'objectif :

La sélection d'un agent anti-microbien particulier pour traiter une infection est basée essentiellement sur son activité propre vis à vis de l'agent pathogène et sur ces caractéristiques pharmacocinétique, ceci implique de recherche, détecter et identifier le ou les micro-organismes responsables de la maladie.

Les tests mis en évidence au laboratoire doit vérifier ou établir que l'agent anti-infectieux, pressenti (extrait de la sauge) a une activité sur les micro-organismes considérés.

2- Matériels et réactifs :

2-1- Préparation des suspensions bactériennes :

a) Prélèvements des échantillons :

Ce sont différents échantillons biologiques prélevés sur des malades hospitalisés ou des personnes externes puis acheminés au laboratoire de bactériologie du secteur sanitaire de Jijel pour les analyser.

(prélèvement vaginal, selles, pus, sang, sperme, LCR...etc).

Ils sont réalisés et conservés selon les règles de stérilité afin d'éviter toute contamination.

* Pour les échantillons de la peau et de muqueuse, on emploie le plus souvent un écouvillon stérile.

* Les échantillons de sang et de liquide céphalorachidien sont prélevés par aspiration à la seringue.

* L'intubation consiste à introduire un tube dans un canal ou un organe creux du corps.

* Les prélèvements arrivent au laboratoire dans des tubes à essais ou des écouvillons, sont réalisés et conservés selon les règles de stérilité afin d'éviter toute contamination.(12)

b) Isolement et identification des germes :

Le laboratoire de microbiologie clinique peut fournir une identification des micro-organismes sur la base d'examen microscopique de l'échantillon ; de la croissance et des caractères biochimiques des souches isolées.

L'identité initiale d'un organisme bactérien est suggérée par l'origine de l'échantillon mis en culture ; l'aspect microscopique ; son profil de croissance sur des milieux sélectifs, différentiels, d'enrichissement et ses propriétés hémolytiques, métaboliques, et de fermentation.(12)

Dans notre étude, nous avons ensemencés différents milieux de culture suivant le type de germe recherché (tableau1).

Tableau 1 : milieu de culture utilisé pour les différentes souches

Espèce	Milieu sélectif
<i>Entérobactéries</i>	Gélose BCP
<i>Staphylocoques</i>	Gélose CHAPMAN
<i>Germes exigeants</i>	Gélose au sang

Ces milieux d'isolement permettent, par un examen de la culture, de différencier facilement plusieurs types de micro-organismes. La différenciation est basée sur la présence d'un produit indicateur (substrat, indicateur de PH, colorant) qui réagit de façon variable avec le germe.

Les *Staphylococcus aureus* sont identifiés à partir du milieu Chapman, colonies dorés, virage du milieu aux jaune, et *S. épidermidis* à partir du milieu chapman, colonies blanches, le milieu ne virent pas au jaune.

Pour les entérobactéries, l'identification se fait sur galerie biochimique classique (tableau2).

Tableau 2 : caractères biochimiques de quelques germes utilisés dans notre étude.

Espèce\caractères biochimique	glucose	lac	sac	Mob	Urée	Citrate	VP	RM	indole
<i>E- coli</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	+
<i>Entérobacter agglomerans</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>Pseudomonas aérogénosa</i>	+	+	-	+	-	+	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	-	-
<i>Klebseilla sp</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	-
<i>Citrobacter sp</i>	+	+	-	+	-	+	-	-	+

2-2- Méthode d'extraction :

a) Extraction hydro- ethanologique :

Les feuilles de la plante « sauge » sont séchées à l'air libre puis broyées à l'aide d'un mortier.

Verser le mélange (eau + éthanol) dans une éprouvette graduée avec les feuilles broyées et on laisse macérer pendant 72 heures avec renouvellement du solvant chaque 24 heures.

- La filtration du mélange hydro-ethanologique permet de récupérer les substances organiques.
- L'évaporation à sec se fait dans le but de séparer l'extrait sec de la phase aqueuse et ceci grâce au rotavoper à une température de 50°C.

- La reprise par l'eau bouillante, puis on le laisse décanter pendant 24 heures afin d'éliminer les impuretés.
- Récupération de la phase aqueuse.

b) Affrontement :

La phase aqueuse est affrontée par trois solvants différents :

1) Affrontement par l'éther :

La phase aqueuse est déversée dans une ampoule à décanter et à laquelle, on rajoute l'éther, après une agitation énergétique et un repos de 10 mn, deux phases sont obtenues :

- La phase aqueuse en bas
- La phase éther en haut.

La phase éther est récupérée dans un becher. Alors que la phase aqueuse est remise dans une ampoule à décanter afin de procéder à une 2^{ème} et 3^{ème} extraction par l'éther dans le but de récupérer le maximum de produit.

2) Affrontement par l'acétate d'éthyl :

La phase aqueuse obtenue après affrontement à l'éther est toujours remise dans une ampoule pour répéter les mêmes opérations mais avec un autre solvant qui est l'acétate d'éthyl.

3) Affrontement par le n- butanol :

Même technique qui précédemment seulement le solvant utilisé est le n-butanol.

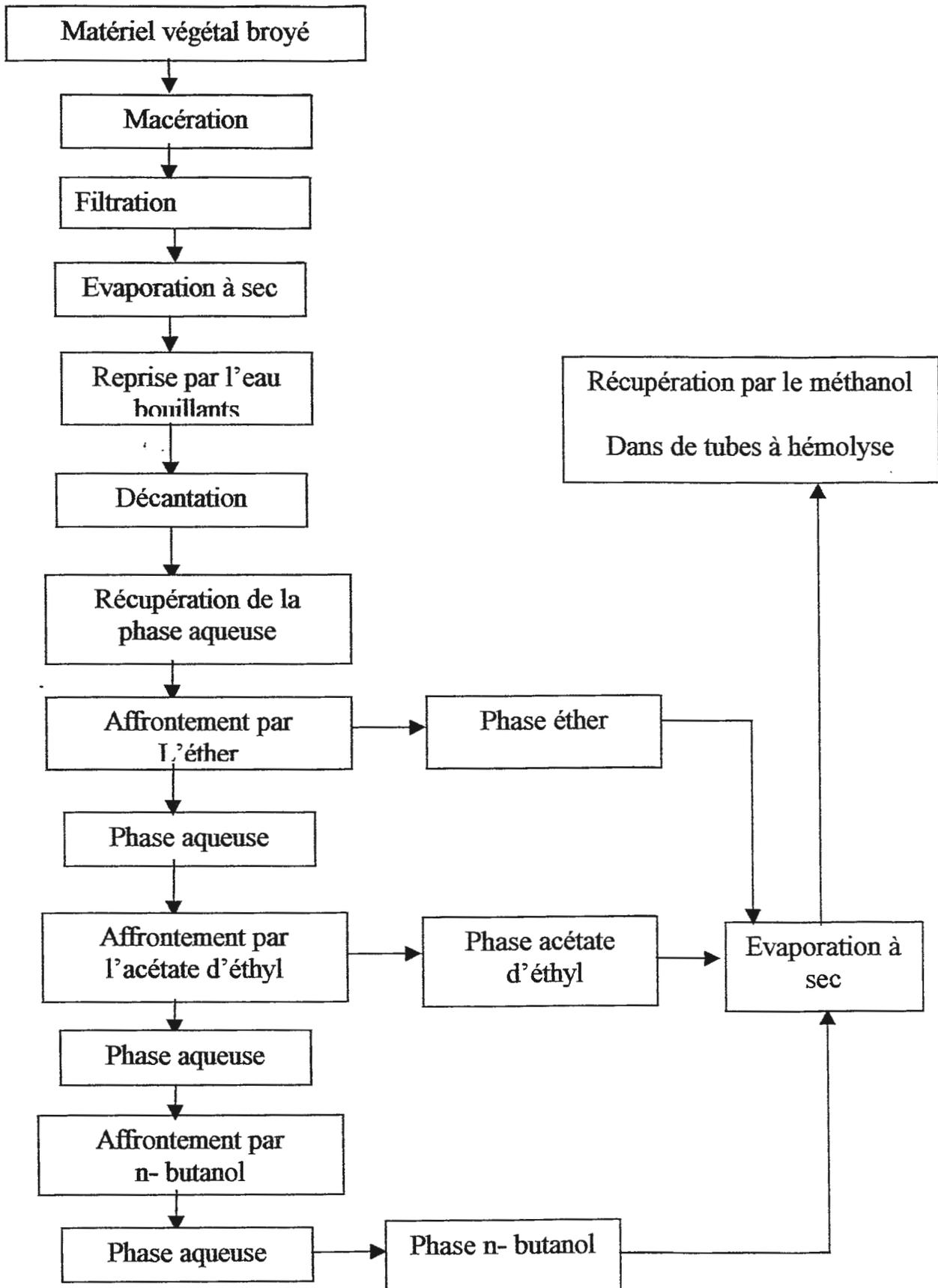
c) Evaporation à sec :

Les différentes phases (éther, acétate d'éthyl, n- butanol) ont été concentré à sec à l'aide d'un évaporateur.

d) Récupération par le méthanol :

Les extraits secs sont ensuite récupérer par le méthanol dans des tubes à hémolyse ; et cette récupération se fait à l'aide de pipette pasteur, et de cette façon les extraits sont prêt.(7)

Schéma général des étapes de l'extraction :



2-3- Evaluation de l'activité antibactérienne :

a)-Test de diffusion :

***- Principe :**

Un inoculum bactérien est étalé uniformément sur le milieu gélose de Mueller–Hinton. Des disques de papier buvard imprégné d'une quantité définie d'antibiotique sont disposés, à équidistance, à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse dans le gel, sa concentration étant d'autant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration).(8)

Après 18-24 heures d'incubation à 37°C, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne autour de disque. La valeur du diamètre, qui est fonction de la sensibilité de la souche, dépend de plusieurs paramètres dont les plus importants :

- La concentration minimale inhibitrice de la souche (CMI).
- La vitesse de croissance de la bactérie.
- Le contenu du disque en antibiotique.
- Standardisation de l'inoculum bactérie.(12)

***- Préparation des disques :**

- Nous découpons des disques de 6mm de diamètre dans du papier watman.
- Imprégnons les disques avec l'extrait de plante à l'aide de la pipette pasteur et on les laisse sécher.
- La préparation des disques doit s'effectuer dans des conditions de stérilité rigoureuse pour éviter toute contamination.

***- Technique de diffusion :**

- Nous effectuons une dilution des bouillons nutritifs contenant des germes.
- Un tube à essai contenant 5ml d'eau distillé à PH=7, ajoutons une goutte de bouillon contenant la bactérie testée avec la pipette pasteur.
- Nous ensemençons chaque boîte qui contienne le milieu gélose de Mueller- Hinton avec un germe donné à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette pasteur par la méthode d'étalement uniformément.
- Nous déposons les disques imprégnés de l'extrait à équidistance à la surface de la gélose ensemencée
- Nous déposons aussi un disque d'antibiotique à le quel la bactérie est sensible comme référence.

b)-Test de Dilution :

Grâce aux méthodes de dilution on peut déterminer les valeurs de la CMI et de la concentration minimale bactéricide CMB.

Dans la méthode de dilution en bouillon, on prépare une série des tubes de bouillon contenant des concentrations d'antibiotique variables, et on l'inocule avec une population standard de l'organisme testé.

La concentration la plus faible de l'antibiotique inhibant la croissance est la CMI. On détermine la CMB en transférant à un échantillon des tubes ne présentant pas de croissance dans un milieu frais dépourvu d'antibiotique.

La concentration d'antibiotique la plus faible à la quelle les micro-organisme ne se développent pas dans ce nouveau milieu est la CMB.

La méthode de dilution en gélose est très semblable à la méthode de dilution en bouillon.(12)

***- Test de dilution sur milieu liquide :**

- pour chaque germe, nous prenons 3 tubes à essai contenant 5ml de bouillon nutritif.
- Nous mettons dans ces tubes 1ml, 2ml, 3ml d'extrait de plante (1/10), on obtiens donc un gradient de concentration.
- A partir de la culture jeune, onensemence les tubes avec une goutte de la suspension bactérienne.
- Incubation à 37°C pendant 24h.

***- Test de dilution sur milieu solide :**

- On fait fondre la gélose Muller- Hinton dans l'étuve ;
- Nous ajoutons 2ml d'extrait de plante dilué à l'aide d'une pipette graduée stérile à la gélose fondue à 45°C, de façon à avoir une gélose homogène ;
- Nous coulons le milieu sur les boites de pétrie, respectant les conditions de stérilité ;
- Nous obtenons à la fin ; des boites ensemencées avec des germes différents ;
- On incube à 37°C pendant 24h.

Remarque :

La préparation de dilution 1/10 s'effectue par l'addition de 9 ml de l'eau distillé par 1 ml d'extrait brut.

Résultats

IV- Résultats :

Les résultats que nous avons obtenu sont représentés dans les tableaux suivants :

a)- En fonction de la quantité de l'extrait :

Tableau 2 : caractères biochimiques de quelques germes utilisés dans notre étude.

Espèce \ volume d'extrait	1 ml	2 ml	3 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-
<i>Streptocoques fécaux</i>	-	-	-
<i>E-coli</i>	-	-	-
<i>Citrobacter sp</i>	-	-	-
<i>Entérobacter agglomérans</i>	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-
<i>Klebseilla pneumoniae</i>	-	-	-
<i>Pseudomonas aérogenosa</i>	-	-	-

- Nous remarquons une formation d'un trouble bactérien après 24h d'incubation avec les différents volumes utilisés de l'extrait:

Donc il y a une pousse des germes traités.

D'après ces résultats, on peut distinguer le comportement des cocci est des bacilles en fonction des différentes volumes utilisés de l'extrait de cette plante (tableau 4, 5) :

Tableau 4 : La sensibilité des cocci en fonction de l'extrait de plante

Espèce \ volume d'extrait	1 ml	2 ml	3 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-
<i>Streptocoques fécaux</i>	-	-	-

D'après le tableau, nous avons constatés qu'il n'y a aucune activité de l'extrait de la plante par différents volumes sur les cocci.

Tableau 5 : La sensibilité des entérobactéries en fonction d'extrait de plante.

Espèce \ volume d'extrait	1 ml	2 ml	3 ml
<i>E-coli</i>	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	-	-	-
<i>Entérobacter agglomérans</i>	-	-	-
<i>Pseudomonas aérogenosa</i>	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-
<i>Klebseilla pneumoniae</i>	-	-	-

D'après ces résultats, les bacilles testés ne sont pas sensibles aux différents volumes utilisés de l'extrait de la plante.

b)- En fonction de la méthode des disques :

Tableau 6 : comportement des souches étudiées à l'extrait par le test de diffusion.

Espèces	Disque imprégné d'extrait				Référence
	n-butanol	Totum	acétat	méthanol	
- <i>Staphylococcus. aureus</i>	-	-	-	-	Rifampicine
- <i>Staphylococcus. epidemidis</i>	-	-	-	-	Viriginiamycine
- <i>Streptocoques fécaux</i>	-	-	-	-	Pénicilline
- <i>E. coli</i>	-	-	-	-	Gentamicine
- <i>Entebacter. agglomerans</i>	-	-	-	-	Colistine
- <i>Citrobacter. sp</i>	-	-	-	-	Amikacine
- <i>Klebseilla. pneumoniae</i>	-	-	-	-	Colistine
- <i>Proteus . mirabilis</i>	-	-	-	-	Imipeneme
- <i>Pseudomonas sp</i>	-	-	-	-	Ticarciline
- <i>Coliformes fécaux</i>	+	+	-	-	Pénicilline
- <i>Clostridium sp</i>	+	+	-	-	Pénicilline G

- D'après ce tableau, nous avons constaté une zone d'inhibition autour des disque imprégné d'extrait affronté par n-butanol et aussi le totum pour le *Clostridium* et les coliformes fécaux.
- Par contre, les autres souches testées sont montrées une résistante au l'extrait séparé par différents solvants

c)- En fonction de la méthode d'évaluation :

Tableau (7) : comportement des souches étudiés à l'extrait par différentes méthodes.

Espèce bactérien / méthode d'évaluation	Sur milieu liquide	Sur milieu solide	disque	
			extrait	référence
- <i>Staphylococcus. Aureus</i>	-	-	-	Rifampicine
- <i>Staphylococcus. Epidemidis</i>	-	-	-	Viriginiamycine
- <i>Streptocoques fécaux</i>	-	-	-	Pénicilline
- <i>E. coli</i>	-	-	-	Gentamicine
- <i>Entebacter. agglomerans</i>	-	-	-	Colistine
- <i>Citrobacter. sp</i>	-	-	-	Amikacine
- <i>Klebseilla. Pneumoniae</i>	-	-	-	Colistine
- <i>Proteus . mirabilis</i>	-	-	-	Imipeneme
- <i>Pseudomonas sp</i>	-	-	-	Ticarciline
- <i>Coliformes fécaux</i>	✓	✓	+	Pénicilline
- <i>Clostridium sp</i>	✓	✓	+	Pénicilline G

D'après les différentes méthodes utilisées pour tester l'activité de l'extrait de plante avec ces germes, nous avons observés qu'il n'y a aucune activité sur la croissance des entérobactéries considérés, et les *Staphylococcus aureus* ; et *S. épidermidis*, ainsi que sur les *Streptocoques fécaux*.

Par contre, on a remarqué une activité de l'extrait sur les *Coliformes fécaux* et le *Clostridium*.

***- Interprétation des résultats :**

- Test de dilution :

*** Sur milieu liquide :**

On remarque un trouble visible dans les tubes à essai, pour lesquels on ajoute 1ml, 2ml, 3ml d'extrait dilué (1/10) de la plante pour toutes les souches traités ; sauf pour le *Clostridium* et les coliformes fécaux, qui n'ont pas été testé à cause du manque de l'extrait.

*** Sur milieu solide :**

Nous avons remarqué une pousse de colonies visible et établie sur toute la surface de la gélose, pour toutes les souches testés.

- Test diffusion :

On observe des colonies réparties sur toute la surface de la gélose et aussi autour des disques imprégnés de l'extrait pour les germes suivants :

- Les *Staphylocoques*
- Les *Streptocoques*
- Les *Entérobactériés*

Par contre on observe une zone d'inhibition autour des disque imprégnés de :

* L'extrait affronté par le n-butanol :

- Totum

Tableau (8) : la mesure de la zone d'inhibition en fonction de l'extrait.

Extrait	Totum	n – butanol
Espèce		
- <i>Coliforme fécaux</i>	$\phi = 11 \text{ mm}$	$\phi = 09 \text{ mm}$
- <i>Clostridium</i>	$\phi = 16 \text{ mm}$	$\phi = 11 \text{ mm}$

D'après les mesures de la zone d'inhibition des germes sensibles au l'extrait nous avons remarqués que :

- L'effet antibiotique de Totum est plus important que l'extrait séparés sur n-butanol pour les deux souches (*Clostridium*, *Coliformes fécaux*).
- Le *Clostridium* est plus sensible à l'extrait utilisé que les *Coliformes fécaux*.

DISCUSSION

V- Discussion :

Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence des agents bioactifs.

La recherche de ces agents à activité antibactérienne constitue toujours un domaine de recherche très fructueux.

En effet, la médecine moderne dépend des agents chimiothérapeutiques, et surtout après la découverte d'un nombre très important d'antibiotiques efficace contre de nombreuses infections.

Comme l'énormes quantités d'antibiotiques sont utilisées, un nombre croissant de germes résistant aux traitement suite à la propagation d'une résistance à ces substances.

C'est alors que la recherche d'autres médicaments plus efficaces et moins toxique se manifesta.

Plusieurs axes sont exploités, soit, la synthèse, la semi-synthèse mais l'exploitation des plantes peut être l'axe promoteur.

C'est dans cet axe que s'inscrit notre travail durant lequel nous avons fixé trois objectifs :

- Rechercher une activité antibactérienne à partir d'extrait de plante de sauge ;
- Rechercher les souches bactériennes sensible à cet extrait ;
- Comparer l'effet de l'extrait brut avec les fractions séparées sur différents solvant et purifiées.

Pour toutes les souches bactériennes qui ont été étudiées. Seule les coliformes fécaux et le *Clostridium* ont montré une sensibilité à l'extrait brut avec les fractions séparées sur n-butanol et le principe total (totum) ; apparaissant sur milieu solide (test de diffusion).

Les résultats positifs doivent approfondir la recherche de CMI et CMB, pour choisir un traitement initial d'un médicament, chose qu'on a pas pu vérifier à cause d'insuffisance de la quantité d'extrait préparé.

Les souches sensibles a partir d'extrait purifié en n-butanol et l'extrait totum, montre que le principe actif de ces fractions contiennent des substances chimiques utilisables en thérapeutique (effet antibactériennes).

Pour les souches bactériennes qui ne montrent pas une sensibilité à l'extrait brut ou aux fractions purifiées. L'origine de cette inefficacité est probablement due, soit à la résistance normale de ces germes à l'extrait utilisé. Soit, la concentration finale utilisée de l'extrait est insuffisante pour avoir une activité antibactérienne, puisque nous avons comparé l'effet selon trois méthodes et de façon parallèle.

Aussi, l'extrait peut renfermer plusieurs principes actifs pouvant interférer entre eux et inhiber l'activité de l'un de constituants.

Ainsi, les méthodes d'extraction peuvent aboutir a une dénaturation des molécules actives.

D'après les résultats obtenus, on peut penser à la spécificité de l'activité d'extrait du plante de sauge contre certains germes, et son pouvoir antibactérien est plus important lorsque l'extrait utilisé avec le principe actif total (totum).

Conclusion

VI- Conclusion :

La phytothérapie reste un apport considérable dans le traitement de certaines infections bactériennes, elle serait plus bénéfique si on arrivait à démontrer ces actions. C'est ainsi que notre étude réalisée sur différents germes bactériennes a montré que l'extrait de la plante « *Salvia officinalis* » à une activité antibactérienne sur le *Clostridium* et les *coliformes fécaux* ; apparaissant par le test de diffusion sur milieu solide à l'extrait séparer par n-bétanol et totum.

Pour les autres souches testées l'extrait n'a aucun effet antibiotique.

Cela nous a permet de parler du résistance naturelle de ces germes envers le principe actif de cette plante. Toute fois d'autre germes peuvent lui être sensible. Ou alors que l'extrait utilisé dans notre étude n'est pas suffisamment concentré pour avoir une activité antibactérienne. Aussi, la substance active pourrait être dénaturée par les méthodes d'extractions du plante.

Afin de mieux comprendre ces paramètres, une étude approfondie doit être effectuée pour vérifier ces mécanismes d'actions.

Bibliographie

Bibliographie

- 1) Association des professeurs de pathologie infectieuse et tropicale. Maladies infectieuses, le popi. Guide de traitement
- 2) AVRIL. J.L, DABERNAT.H, DENIS.F, MONTEIL. H, bactériologie clinique. 2^{ème} édition.1992.
- 3) BELOUED. A. plantes médicinales d'algerie.1998.
- 4) EBERLIN. THIERRY. Les infections microbiennes. Tome(2) physiopathologie.1997.
- 5) GAUSSEN. H. précis de botanique. 2^{ème} édition MASSON.1982
- 6) GUIRAUD. JOSEPH-PIERRE. Microbiologie alimentaire. Paris 1998.
- 7) HADJADJ. SALIHA, LABED HOUDA. Memoir DES en biochimie. Le métabolisme secondaire et l'extraction des flavonoïdes chez une plante (la menthe).1992-1993.
- 8) LECLERE. H, GAILLARD. J.L, SIMONET.M. Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin éditeurs.1995.
- 9) MAHMOUDI YAHIA. La thérapeutique par les plantes les plus communes en Algérie.
- 10)NICKLIN. J, GRAEME- COOK.K, PAGET.T, KILLINGTON.R, l'essentiel en microbiologie 1999.
- 11) PRESCOTT, HARLEY, KLEIN. Microbiologie 1995.
- 12) SEVENET THIERRY. Plantes, molécule et médicaments. Octobre 1994.

13) WICHTL. MAX, ANTON ROBERT. Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique 199

Internet :

14) <http://WWW.estat.com/gestats?serial = 258058566 91>.

15) <http://WWW.clin-production.fr/index.htm>.

16) <http://WWW.CPS.ca/français/index.htm>.

17) <http://WWW.Luberon-news.com/plantes-aromatiques-culinaires/sauge.htm>.

18) http://fr.encyclopédia.yahoo.com/articles/SO/SO_460_PO.html.

19) WWW.a.pia.umontreal.ca/gardrat/cours/APP1500/exemples/herbiers/Froment/sauge.html-12K.

20) <http://crdp.ac-clemont.fr/etabliss/bpambert/elevés/médicaments/antibiotiques.htm>.

Annexe

Annexe

Annexe 1

1)- composition du milieu de chapman :

(en gramme par litre d'eau)

- Extrait de viande.....	1gr/l
- Chlorure de sodium.....	75gr/l
- Peptone.....	10gr/l
- Gélose.....	15gr/l
- Mannitol.....	10gr/l
- Rouge de phénol.....	0,025gr/l

2)- Bouillon nutritif :

-Extrait de viande.....	5gr/l
-Peptone pancréatique.....	10gr/l
-Chlorure de sodium.....	5gr/l

3)- Milieu gélose nutritif :

-Extrait de viande de bœuf	1gr/l
-Extrait de levure.....	2gr/l
-Peptone.....	5gr/l
-Chlorure de sodium.....	5gr/l
-Gélose.....	15gr/l

4)- Milieu de Mueller Hinton :

-Infusion de viande de bœuf.....	300gr/l
-Hydrolysât de caséine.....	75,5gr/l
-Amidon.....	1,5gr/l
-Gélose.....	10gr/l

5)- Gélose au sang :

Gélose nutritive + 5% de sang de cheval ou de mouton

6)- Gélose BCP :

-Extrait de viande de bœuf.....	3gr/l
-Bio-polytone.....	5 gr/l
- lactose	10gr/l
-Gélose.....	10gr/l
-Bromocrésol pourpre.....	0.025gr/l

ANNEXE 2

-ADH :milieu pour mise en évidence de l'arginine dihydrolase.

-LDC :lysine décarboxylase.

-ONPG : (réactif pour étude de la b-galactosidase)

ortonitrophényl b-galactopyranoside.

-ODC :ornithine décarboxylase .

-VP :(réaction) Voges-Proskauer.

-LCR : Liquide céphalo-rachidien.

Nom :	Prénom :	Date de soutenance:
- BOUFAGHES	Samir	27/06/2001
- BECHIBCHI	Mohammed	
- BEDOUHENE	Abdelouahid	
Thème : Etude de la contribution à l'évaluation antibactérienne à partir d'extrait de la sauge		
Nature de diplôme : Diplôme d'étude supérieur de biologie moléculaire et cellulaire		
Option : microbiologie		
Résumé :		
<p>La recherche de nouvelles substances à activité antibactérienne demeure toujours domaine d'actualité.</p> <p>Notre travail concerne l'étude de la contribution à l'évaluation d'un extrait brut. D'une plante traditionnelle « <i>Salvia officinalis</i> » contre certains souches bactériennes. Ce travail a été réalisé sur différents germes isolés de différents produits pathologiques. les résultats obtenus montrent :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Un effet antibactérien de l'extrait de la sauge sur les Clostridium et les coliformes fécaux ; - L'absence d'une activité antibactérienne de l'extrait de la sauge sur les autres germes testés ; ainsi une étude plus approfondie est nécessaire pour mieux le cerner. 		
Abstract :		
<p>Our work concerns the survey of the contribution has the assessment of a raw excerpt of a traditional plant against certain bacterial stump.</p> <p>Results show has priori:</p> <ul style="list-style-type: none"> - The absence of an activity of the raw excerpt on enterobacterieses. - An effect of the raw excerpt on clostridium and coliformes fecauxes <p>So a more deepened survey and necessary to surround it better.</p>		
ملخص:		
<p>البحث عن مركبات جديدة ذات تأثير ضد ميكروبي لا يزال يشكل مجال البحث الحاضر.</p> <p>الموضوع الذي قمنا به يهتم بدراسة التأثير المضاد للبكتيريا لمستخلص نبات الصوج. من أجل تأكيد هذا، قمنا بعمل تجريبي على عينات بكتيرية مختلفة ومعزولة من أشكال مرضية مختلفة. ومن نتائج هذه الدراسة استخلصنا :</p> <ul style="list-style-type: none"> - نشاط ضد البكتيري لمستخلص نبات الصوج على كل من كلوستريديوم و العصيات البرازية؛ - غياب هذا التأثير ضد البكتيري للمستخلص النباتي عند بقية العينات الأخرى. <p>هذا وتبقى ضرورة إجراء دراسة معمقة من أجل تأكيد وبصورة دقيقة هذه النتائج.</p>		
Mots clés : Plante de sauge , activité antibactérienne.		
Laboratoire de recherche Institut de biologie		
Encadré par : M ^{me} : ROULA Sagia		