

République algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la  
recherche scientifique  
Centre universitaire Abdelhek Ben Hammouda –Jijel-  
Institut des sciences de la nature

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
المركز الجامعي عبد الحق بن حمودة –جيجل-  
معهد علوم الطبيعة الحياة

## MEMOIRE

*En vue de l'obtention du diplôme  
d'études supérieures en biologie moléculaire et cellulaire  
Option: Microbiologie*

## THEME

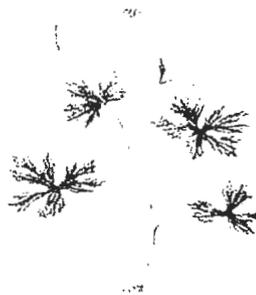
**Evaluation de l'activité  
anti-*Staphylococcus epidermidis*  
d'un extrait brut  
de la plante *Ranunculus repens L.***

Jury composé de :

- ◆ Mr. BOULDJEDRI Mohamed : Président
- ◆ Mme. BAHRI Fathia : Examineur
- ◆ Mme. ROULA Sadjia : Encadreur

Présenté par :

NIBOUCHA Inès  
ATOUB Yamina



**Promotion 2001**

N°d'ordre.....

# Sommaire

I- Introduction .....	01
II- Analyse bibliographique :	
<b>II.1-Les plantes médicinales : les renoncules :</b> .....	02
II.1.1- Généralité sur Les plantes médicinales .....	02
II.1.1.1- Les familles végétales.....	02
II.1.2-Les renoncules.....	05
II.1.2.1-Les renonculacées.....	06
II.1.2.2-Ranunculus.....	06
a- <i>Ranunculus bulbosus</i> .....	06
b- <i>Ranunculus acris</i> .....	07
c- <i>Ranunculus repens</i> .....	09
c-1-Systématique.....	09
c-2-Les caractères généraux de l'espèce.....	11
c-3-Emploi en pratique populaire.....	12
<b>II.2- Les staphylocoques :</b> .....	13
II.2.1- Taxonomie.....	13
II.2.2- Le genre <i>Staphylococcus</i> .....	13
II.2.2.1-Staphylococcus coagulase négatif.....	15
a-Classification et habitat.....	15
b-Caractères bactériologiques.....	15
c-Pouvoir pathogène.....	15
II.2.2.2- <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	16
II.2.3-les infections staphylococciques.....	16
a-Les folliculites.....	16
a-1-Les folliculites superficielles.....	16
a-2-Les follicules profondes.....	16
b-Le furoncle.....	17
<b>II.3-Les antibiotiques :</b> .....	19
II.3.1-Classification des antibiotiques.....	19
II.3.2- Sensibilité aux antibiotiques.....	19
a-Antibiogramme.....	21
b-Concentration minimale inhibitrice CMI.....	21
c-Concentration minimale bactéricide CMB.....	22
II.3.3-Résistance aux antibiotiques.....	22
a-Les types de résistance.....	22
b-Les niveaux de résistance.....	24
II.3.4-Mode d'action et spectre d'activité des antibiotiques.....	24
II.3.5-Les antistaphylococciques.....	24
a-Vancomycine.....	24
b-Teicoplanine.....	25
c-Rifampicine.....	25
d-Acide fusidique.....	25
II.3.5.1-Les anti- <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	27
III-Matériels et méthodes :	
<b>III.1-Matériels :</b>	28
III.1.1-Préparation de l'extrait de plante.....	28
III.1.2-Préparation des suspensions bactériennes.....	29

<b>III.2-Méthodes :</b> .....	<b>31</b>
III.2.1-Evaluation de l'activité anti- <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	<b>31</b>
<b>IV-Résultats et interprétations :</b>	
IV.1-Activité anti- <i>Staphylococcus epidermidis</i> de l'extrait de <i>Ranunculus repens L.</i> par la méthode de diffusion .....	<b>34</b>
IV.2-Activité anti- <i>Staphylococcus epidermidis</i> de l'extrait de <i>Ranunculus repens L.</i> par la méthode de dilution.....	<b>38</b>
IV.2.1-Test de dilution sur milieu solide.....	<b>38</b>
IV.2.2-Test de dilution sur milieu liquide.....	<b>38</b>
a)- Evaluation de la CMI de l'extrait de <i>Ranunculus repens L.</i> .....	<b>39</b>
b)- Evaluation de la CMB de l'extrait de <i>Ranunculus repens L.</i> .....	<b>42</b>
<b>V-Discussion</b> .....	<b>44</b>
<b>VI-Conclusion</b> .....	<b>46</b>
<b>Bibliographie</b>	
<b>Annexes :</b>	

# Introduction

# I-Introduction :

Depuis toujours, l'homme a cherché à tirer profit des propriétés curatives des plantes. Cependant cette thérapie naturelle ne commença à jouer un rôle important dans l'évolution des antibiotiques qu'à partir des recherches des nouveaux antibiotiques. Cette découverte de nouveaux médicaments s'est effectuée en recherchant les principes actifs des plantes médicinales[6], qui pour la plupart étaient des plantes toxiques, comme le cas de *Ranunculus repens L.*

La tradition ne justifie pas à elle seule la valeur de la thérapie. La science, ces dernières années, a pu analyser, extraire les principes actifs, comprendre le mode d'action et prouver de façon indubitable l'efficacité de nombreuses plantes. Ainsi l'essai de l'extrait de plantes récoltées sur les germes en culture in vitro permet de mettre en évidence des substances antibiotiques.

L'objectif de notre recherche consiste dans un premier temps à mettre en évidence l'existence d'une éventuelle activité anti-*Staphylococcus epidermidis* à partir des extraits de la plante *Ranunculus repens L.*, plante très utilisée dans la région de JIJEL.

Le deuxième objectif d'étude consiste à mettre au point des techniques in vitro (test de diffusion, test de dilution), pour déterminer la concentration minimale inhibitrice **CMI** et la concentration minimale bactéricide **CMB**, à partir de l'évaluation de l'activité anti-*Staphylococcus epidermidis*.

**Analyse**

**bibliographique**

# *Les plantes médicinales:* *Les renoncules*



## II.1- Les plantes médicinales : Les renoncules

### II.1.1- Généralités sur les plantes médicinales :

La plante est un réservoir de principes actifs qui sont toujours liés à d'autres substances qui contrôlent et même modifient leur action [13].

La manière la plus commune de se traiter par la phytothérapie consiste à utiliser une seule plante ou « simple » pour un besoin précis [15]. Une même plante peut cependant s'employer de diverses façons : ainsi la renoncule se boit en infusion (infuser seulement avec de l'eau chaude) contre les affections fébriles en particulier contre la grippe [15]. Cette souplesse d'emploi permet de trouver facilement l'espèce et le mode d'administration qui convient à chaque cas [6].

L'emploi des simples à bon escient constitue l'un des trésors offerts par les plantes médicinales. Elles s'utilisent sous diverses formes: pommade, cataplasmes, gargarismes, vaporisation pour la maison, bains de mains ou de pied... etc.

- ◀ Les pommades : «attirent» les corps étrangers ou les agents infectieux vers la surface de la peau. les furoncles et les abcès se traitent ainsi.
- ◀ Les cataplasmes : soignent les infections, apaisent, réchauffent, favorisent l'élimination et la guérison.
- ◀ Les gargarismes : soignent les maux de gorge, ils sont également conseillés pour les problèmes de gencives.

Donc la plante médicinale peut rendre de bons services, même dans des maladies plus graves, comme certaines éruptions cutanées ou les maladies pulmonaires [6].

#### II.1.1.1- Les familles végétales :

Les principes actifs sont des substances chimiques bien définies qui ont une action sur la physiologie animale. En principe, une plante ne doit pas être administrée

pour l'action de l'un de ses composants, mais bien pour l'effet combiné de tous ceux qu'elle recèle [26].

Les principes actifs les plus importants sont :

- **Les alcaloïdes :**

Ce sont des substances azotées d'origine végétale [26]. Ils sont souvent les composants les plus actifs dans une plante ; certains de médicaments sont dérivés d'alcaloïdes de végétaux, notamment la morphine, la caféine et la nicotine[6]. Certains ont une action sur le système nerveux, d'autre agissent sur le système circulatoire et sur l'appareil respiratoire [26].

- **Les anthraquinones :**

On trouve ses principes actifs dans le séné, les racine de rhubarbe et l'aloès [6].

- **Les flavonoïdes :**

Présents dans les grumes, le sarrasin, l'achillée, etc. les flavonoïdes renforcent les vaisseaux sanguins, améliorent la circulation périphérique et ont une action anti-inflammatoire. Ils sont utilisés contre l'hypertension, les troubles de la circulation et les varices [11].

- **Les hétérosides :**

Les hétérosides sont composés d'une base sucrée et d'autres radicaux. On les trouve couramment chez les dicotylédones, en particulier dans la famille des apocynacées. Ils possèdent, entre autre, des propriétés cardiotoniques (feuilles de digitale ) et anti-inflammatoire (écorce de saule ) [26].

- **Les huiles essentielles ou essences :**

Elles figurent parmi les produits les plus utilisés en médecine populaire[6]. Ce sont des mélanges complexes, généralement odorants et volatils, obtenus par

pression et extraction à la vapeur de parties de végétaux. Les essences sont particulièrement abondantes chez les labiées, les rutacées et les lauracées.

Elles possèdent notamment des propriétés antiseptiques pulmonaires (feuilles d'eucalyptus), dépuratives et hypotensives (ail des ours), cicatrisantes (lavande), antispasmodiques (matricaire) [11].

- **Les antibiotiques :**

Les antibiotiques sont des substances qui empêchent le développement des micro-organismes[6].

- **Les mucilages et gommages :**

Dotés d'un pouvoir adoucissant (apaisant, relaxant et rafraîchissant), ils sont utilisés dans les remèdes contre les toux sèches, les inflammations et irritations de l'estomac et des intestins, les irritations de la vessie. Ils sont présents dans les racines et les feuilles de guimauve, ainsi que dans les graines de lin [6].

- **Les principes amers :**

Les plantes amères stimulent la digestion, améliorent l'absorption des composants nutritifs, le fonctionnement du foie, et normalisent le péristaltisme[11].

- **Les résines :**

Les résines sont des substances collantes, solubles dans l'huile, comprenant généralement une huile volatile [11]. Les plantes les sécrètent pour se protéger des infections. Parmi les plantes à résine utilisées pour leur action thérapeutique, citons le souci et la sauge, conseillées en bains de bouche et en gargarismes (utilisées comme irritant de la peau) [6].

- **Les salicylates :**

Ce sont des substances chimiques apparentées à l'aspirine, dotées de propriétés analgésiques, antiseptiques et anti-inflammatoires, on les trouve notamment dans la reine des prés et l'écorce de saule. Elles entrent dans la composition de nombreux

remèdes contre l'arthrite [6].

- **Les saponines :**

Les saponines donnent avec l'eau des solutions qui moussent fortement ; c'est pour quoi on les utilise comme détersifs c'est aussi ce qui leur a valu leur nom (sapo, en latin, signifie savon).

Les plantes contenant des saponines sont particulièrement efficaces pour traiter les problèmes de peau, en usage interne ou externe. Certaines plantes riches en saponines ont sur l'organisme un effet comparable à celui des hormones[11].

## **II.1.2-Les renoncules:**

Ce sont des plantes herbacées, ils appartiennent à la famille des Ranunculaceae. La renoncule la plus connue est le bouton d'or dont les fleurs d'un jaune très vif ont un aspect vernissé. Il existe également des espèces à fleurs blanches : les renoncules de montagne, les renoncules d'eau.

Les feuilles des renoncules ont généralement un contour anguleux ou même découpé. Ce découpage peut être poussé à l'extrême chez les espèces aquatiques, où le limbe finit par se résoudre en lanières capillaires. En revanche, les boutons d'or de marécages, portent des feuilles simples qui ressemblent beaucoup à celles des graminées. Certaines espèces ont une feuille caulinaire élargie en forme de rein (par exemple, le *Ranunculus thora*, plante toxique qui pousse en montagne ).

Il existe des renoncules qui sont considérés comme de mauvaises herbes, car elles se multiplient très rapidement et sont dotées de racines tenaces. De plus, leur légère toxicité et leur âcreté les rendent indésirables dans les pâturages [27].

- **Les principes actifs des renoncules et leurs actions :**

Toutes les espèces de renoncules contiennent, en quantités variables dans les feuilles et les tiges des plantes fraîches, une substance très irritante, l'anémoneol, qui, au séchage se transforme en une substance moins active, l'anémoneine. Il s'ensuit que les renoncules séchées ne sont plus vénéneuses. Cette action irritante est spécialement marquée chez la *Ranunculus thora*, renoncule vénéneuse à fleurs jaunes, comme aussi

chez la renoncule vésicante, *Ranunculus scleratus* et la *Ranunculus acris*. On constate cette irritation en frottant la peau avec des parties de la plante fraîche ; il apparaît une vive rougeur locale. Il s'y forme plus tard des ampoules contenant de l'eau. La renoncule des glaciers (*Ranunculus glacialis*) n'est que peu irritante pour la peau ; par contre selon une pratique populaire, elle aurait une action fébrifuge et anti-inflammatoire dans l'angine et les inflammations de la bouche et de la gorge. Cette action demande à être vérifiée [15].

### II.1.2.1-Les Ranunculaceae :

La famille des Ranunculaceae qui, selon les botanistes, comprendrait une quarantaine de genres et 1500 à 1800 espèces est cosmopolite mais surtout présente dans les régions tempérées et froides de l'hémisphère nord [4].

### II.1.2.2-Ranunculus:

Appelés aussi " bouton d'or", en latin : *Ranunculus*, c'est à dire grenouille [15]. Ce genre comprend environ 300 espèces [4].

#### a) *Ranunculus bulbosus*

Nom commun : *Renoncule bulbeux* [19]

##### ◆ Origine du nom:

Le nom du genre signifie petite grenouille car certaines espèces vivent dans des endroits marécageux [19].

##### ◆ Description:

Plante de 20 à 50 cm à tige dressée, légèrement velue. Fleurs d'un beau jaune d'or, de 1 à 2 cm de diamètre, isolées, terminales. 5 sépales velus et jaunâtres, renversés contre le pédoncule. 5 pétales nectarifères souvent en partie avortés et carpelles à tête sphérique. Feuilles de la base en forme de rein, longuement pétiolées. Bulbe à la base de la tige [19].

##### ◆ Habitat :

Cette plante spontanée est très répandue dans les prairies et les herbeux secs et chauds de la plaine au pied des montagnes [15].

◆ **Parties à utiliser :**

La plante fraîche tout entière [15].

◆ **Propriétés thérapeutiques:**

La renoncule bulbeux connue aussi sous le nom de “rave de Saint-Antoine” contient, comme toutes les Ranunculaceae, des “protoanémonines” qui en font une plante vénéneuse de telle sorte qu’elle provoque au contact de la peau une forte irritation suivie par la formation des chocs siéreuse et dans les cas les plus graves par de profondes ulcération.

On employait en cataplasmes de plante fraîche pour soigner la sciatique. Ce traitement était efficace mais il a des conséquences douloureuses pour la peau ont fait abandonner cette pratique. Actuellement les homéopathes l’emploient sous différentes dilutions pour soigner les névralgies intercostales, l’arthrisme, la goutte, les rhumatismes, les adhérences de la plèvre. Les douleurs aiguës aux yeux ou le long des parcours des nerfs [15].

▪ **Remarque:**

La dessiccation de la renoncule beulbeux altère la composition de ses principes actifs [15].

**b) *Ranunculus acris:***

Nom commun: *Renoncule âcre.*

C’est une espèce vivace, de 25 à 75 cm, fruits à tête arrondie, variable (fig.1) [5].

◆ **Description :**[5]

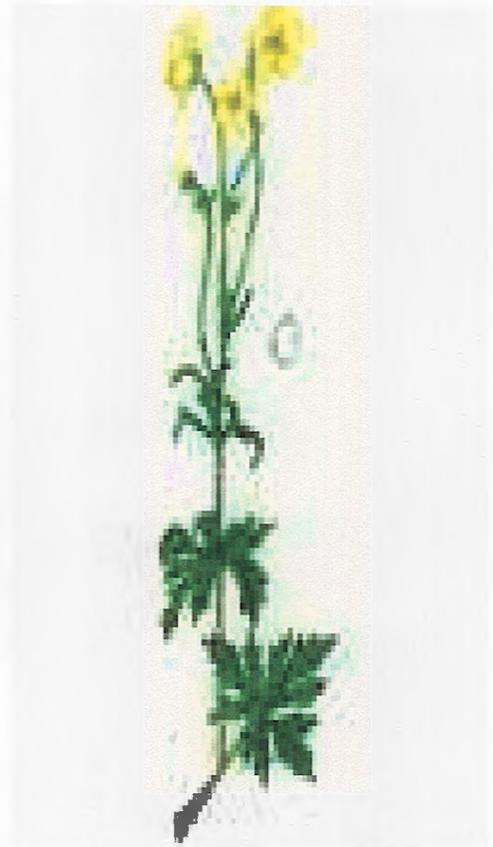
**Fleurs :** Jaune vif, luisantes, de 15 à 30 mm de diamètre, 8 à 12 pétales assez étroits, solitaires, ne s’ouvrant que par grand soleil ; 3 sépales.

**Feuilles :** Très divisées, en 3, 5 ou 7 lobes, chacun très échancré.

**Fruit :** Akènes à une graine, à bec crochu, tête arrondie.

◆ **Habitat :**

Pousse dans les prairies, à proximité des chemins, dans les fossés ; aime les sols azotés argileux, légèrement humides [15].



**Figure( 1) : *Ranunculus acris* (Renoncule âcre)**

◆ **Parties à utiliser :**

Toute la plante mais très rarement et seulement pour usage externe [15].

◆ **Période de récolte :**

La plante est plus riche en principes actifs un peu avant la floraison, mais elle conserve plus ou moins ses caractéristiques pendant toute la belle saison [15].

◆ **Propriétés thérapeutiques :**

On l'utilise rarement par voie externe ; en cataplasmes dans les myalgies du nerf sciatique de saveur âcre, on le dit vénéneux à cause du principe actif appelé « camphre de renoncule » présent dans toute la plante [15].

Le jus du bouton d'or peut provoquer des cloques sur les épidermes sensibles. En se desséchant, le bouton d'or perd son caractère toxique [5].

**c) *Ranunculus repens* :**

Nom commun : ***Renoncule rampante.***

La renoncule rampante est vivace, sa souche est courte, ses racines fibreuses. L'appareil végétatif comprend habituellement des rosettes et stolons rampants, radicants aux nœuds (**fig.2**) [5].

**c-1-Systématique : [23]**

-**Phylum** : Dicotylédone.

-**Subclasse** : Renonculoide.

-**Ordre** : Ranale ou polycarpique.

-**Famille** : Ranunculaceae.

-**Genre** : *Ranunculus*.

-**Espèce** : *Ranunculus repens*.

-**Nom arabe** : Mergheris.

-**Nom commun** : Renoncule rampante.

-**Synonyme du nom commun** : bouton d'or [15] .

-**Noms commun en anglais** : Creeping buttercup.



**Figure (2) : *Ranunculus repens* (Renoncule rampante).**

## **c-2- Les caractères généraux de l'espèce :**

### ◆ Origine du nom :

Le nom du genre signifie petite grenouille car certaines espèces vivent dans des endroits marécageux [5].

### ◆ Description :

Plante de 20 à 50 cm de hauteur. Fleurs jaunes de 2 à 2,5 cm de diamètre, isolées à l'aisselle des feuilles. Se reconnaît facilement par ces tiges stolonifères qui s'enracinent aux nœuds [5].

### ◆ Habitat :

Très commune, se rencontre dans les lieux ombragés et suffisamment humides ( prairies, jardins, chemins ) [5].

### ◆ Parties à utiliser :

Toute la plante [15].

### ◆ Période de récolte :

La plante est plus riche en principe actif un peu avant la floraison, mais elle conserve plus au moins ses caractéristiques toute la belle saison [23].

### ◆ Feuilles : [5]

Premières feuilles : plus larges que longues et à base échancrée ; le limbe d'abord divisé en 3 grosses dents devient profondément découpé en 3 lobes eux-même dentés, les pétioles sont longs.

Feuilles matures : feuilles comportant 3 segments dont le bord est denté à profondément découpé ; le segment médian a son propre petit pétiole.

### ◆ Pousse végétative :

Plantes à port rampant et à stolons (tiges qui courent sur le sol et qui s'enracinent aux nœuds ) [5].

### ◆ Plante adulte : [5]

La tige est plus ou moins dressée, 20 à 30 cm de hauteur. Les feuilles sont longuement pétiolées.

Fleurs (1,5 à 2 cm de diamètre ) d'un jaune brillant, portées par des pédoncules courtes et peu feuillées.

Fruits réunis en petites masses globuleuses, le fruit est un akène (fruit sec ne s'ouvrant pas à maturité) aplatie avec un bec en crochet.

◆ **Espèce semblable : Renoncule âcre**

### **c-3-Emploi en pratique populaire :**

les Renoncules rampantes sont rarement employés en médecine ; ce sont des plantes caustiques qui peuvent provoquer des brûlures buccales si elles sont mâchées [5].

### **Remarque:**

Toutes les renoncules séchées perdent leur agressivité mais elles peuvent perdre en même temps les principes actifs qui les caractérisent. Il faut éviter toujours et surtout d'utiliser cette plante par voie interne [15].



# Les staphylocoques



## II.2-Les Staphylocoques :

Les staphylocoques sont Très fréquemment isolés en pathologie humaine, particulièrement au cours des suppurations, ils sont des germes ubiquitaires : on les trouve en effet dans l'air, les sols et les eaux, ils appartiennent à la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux [9].

### II.2.1-Taxonomie :

Les staphylocoques appartiennent à la famille des **Micrococaceae** qui comprend quatre genres :

*Micrococcus*, *Stomatococcus*, *Planococcus* et *Staphylococcus* [9].

### II.2.2-Le genre *Staphylococcus* :

Comprend une trentaine d'espèces : certaines sont des hôtes de l'homme, d'autres des animaux et d'autres sont rencontrées à la fois chez l'homme et l'animal [7].

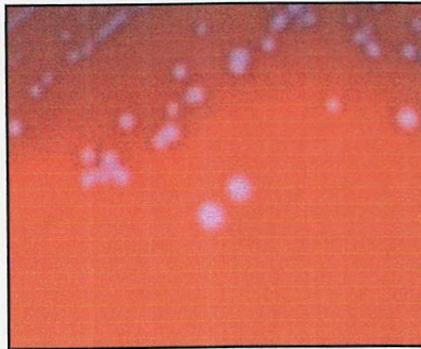
Chez l'homme, les espèces les plus couramment isolées sont : (fig.3)

- *Staphylococcus aureus* ; le plus pathogène.
- *Staphylococcus epidermidis* ; souvent considéré comme un opportuniste.
- *Staphylococcus saprophyticus*; responsable d'infections urinaires chez la femme jeune.
- Et à une fréquence moindre ; *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus capitis* et *Staphylococcus auricularis* .

Il faut se garder d'assimiler *Staphylococcus aureus* à un pathogène obligatoire et *Staphylococcus epidermidis* à un commensal certain; l'un comme l'autre sont des hôtes normaux de la peau et des muqueuses de l'homme pouvant, de ce fait, contaminer les prélèvements mais l'un et l'autre peuvent aussi être à l'origine d'infection graves. Le *Staphylococcus aureus* a néanmoins un potentiel pathogène plus important [9].



**Figure (3) : Différents types de pigments produits par des colonies de Staphylocoques : blanc, citrin, doré.**



**Figure(4) : Colonies de *staphylococcus epidermidis* sur gélose au sang (24heures)  
la taille réelle des colonies est de 1,5 mm.**

### II.2.2.1-Staphylocoque coagulase négatif :

Les Staphylocoques blancs sont considérés comme de simples commensaux de la peau et des muqueuses car ils sont omniprésents. On les désigne sous le nom de « SCN » car, contrairement aux *Staphylococcus aureus*, la plupart d'entre eux sont dépourvus de cette enzyme (la coagulase ) [9].

#### a-Classification et habitat :

Vingt neuf espèces de Staphylocoques coagulase négatif sont répertoriées ; certaines sont des hôtes de l'homme, d'autres de l'animal et d'autres de l'homme et de l'animal.

Chez l'homme, le *Staphylococcus epidermidis* domine largement en particulier sur la peau mais on trouve d'autres espèces: *Staphylococcus capitis* sur le cuir chevelu , *Staphylococcus hominis* ou *Staphylococcus haemolyticus* sur les zone sèches, sur les muqueuses intestinales ou nasales on isole surtout *Staphylococcus epidermidis* et sur la muqueuse vaginale on trouve *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus* . Cette répartition varie légèrement selon l'âge, les habitudes, le mode de vie et une éventuelle antibiothérapie [9].

#### b-Caractères bactériologiques :

Les Staphylocoques coagulase négatif sont évidemment reconnus par l'absence de coagulase ce qui les différencie de *Staphylococcus aureus* (quelques espèces de SCN, animales surtout, possèdent toutefois l'enzyme). De plus, la majorité d'entre eux sont incapables de fermenter le mannitol. Leur identification plus complètes repose sur des caractères bactériologiques classiques (nitratase, phosphatase, ornithine décarboxylase, fermentation sucrée...). Il existe des galeries miniaturisées spécialement conçues à cette fin. La démarche est cependant longue et assez coûteuse et n'a d'intérêt que dans des circonstances épidémiologiques particulières.[9].

#### c-Pouvoir pathogène :

Les Staphylocoques coagulase négatif sont éventuellement responsables d'infections nosocomiales et iatrogènes. Leur virulence est en rapport avec leur capacité d'adhésion aux matériaux étrangers car ils élaborent une substance

polysaccharidique dénommée « slime » qui facilite cette adhérence[9].

### **II.2.2.2-Staphylococcus epidermidis:**

Il s'agit d'un Staphylocoque dépourvue de coagulase (SCN) et qui ne fermente pas le mannitol (fig.4). Contrairement à la plupart des Staphylocoques isolés chez l'homme, il est résistant à la Novobiocine [9].

*Staphylococcus epidermidis* est responsable d'infections vaginales, il peut être responsable d'infections de prothèses vasculaires ou articulaires, de valves cardiaques, de valves de dérivation du liquide céphalo-rachidien LCR. Il est également impliqué dans la survenue de 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'abondante capsule polysaccharidique produite par ce germe [7].

### **II.2.3- Les infections Staphylococciques :**

#### **a-Les folliculites : (fig.5)**

Ce sont des inflammations des follicules pilo-sébacées dont l'origine est une infection staphylococcique. Les lésions de folliculites sont toujours centrées par un poil. On différencie les infections du follicule pilo-sébacé en fonction de l'endroit et de la pénétration de l'infection dans l'épaisseur de la peau. Ainsi, on distingue :

#### **a-1-Les folliculites superficielles :**

Elles sont dues au *Staphylococcus epidermidis*, il s'agit de l'infection de l'orifice du follicule pilo-sébacé au niveau de la peau. Elle forme une papule douloureuse autour de l'orifice et évolue en pustule à contenu purulent, puis elle se dessèche avec formation d'une croûte qui tombe sans laisser de cicatrice. Ces folliculites siègent surtout sur le visage, le thorax, les cuisses et les paupières [8].

#### **a-2- Les folliculites profondes :**

Ce sont des infections aiguës du follicule pilo-sébacée, dues au staphylocoque

doré. Ces infections ont une évolution spontanée nécrosante,elles touchent la partie moyenne du follicule pilo-sébacée qui s'élimine avec des zones voisines nécrose sous forme de "bourbillon" .

- Facteurs favorisants :

On recherchera toujours un terrain fragilisé :diabète, alcoolisme, immuno-dépression primitive ou secondaire à un traitement [17] .

**b-Le furoncle : ( fig. 6)**

Il s'agit d'une infection à Staphylocoque doré de l'ensemble du follicule pilo-sébacé: c'est une atteinte inflammatoire périfolliculaire profonde qui commence par une induration chaude et douloureuse aboutissant en quelques jours à une suppuration éliminant « la folliculite nécrotique » sous forme d'un gros bourbillon jaune au prise d'une cicatrice. Les furoncles peuvent être graves chez les sujets fragiles, en particulier chez les diabétiques [1].

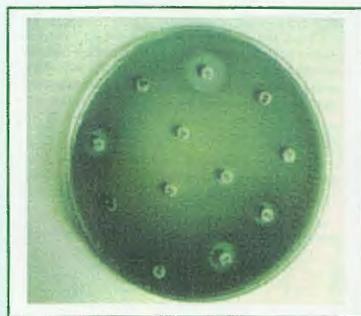


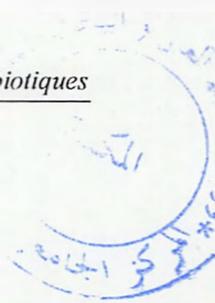
**Figure (5) : Folliculite**



**Figure (6) : furoncle**

# Les antibiotiques





## II.3-Les antibiotiques :

Le terme « antibiotique » désigne une substance antimicrobienne d'origine naturelle (synthétisée par des champignons ou des bactéries). Les antimicrobiens sont des substances chimiques qui empêchent la croissance des micro-organismes ou les détruisent. Ils exercent une action spécifique, c'est-à-dire qu'ils dérèglent le métabolisme de certains micro-organismes sans affecter les cellules humaines ou animales [10].

### II.3.1-Classification des antibiotiques :

Il existe plusieurs critères de classification des antibiotiques (AB) :

- Une classification biochimique
- Une classification suivant leur activité en fonction du spectre d'action (Tableau 1).

Le spectre est la liste des espèces bactériennes sur lesquelles l'antibiotique est actif. Un antibiotique à spectre large agit sur un grand nombre de bactéries (sur les bacilles et coques Gram + et Gram -). Un antibiotique à spectre étroit agit seulement sur les bacilles et coques Gram +.

La classification suivant le mode d'action [22] :

- AB inhibant la synthèse de la paroi bactérienne (Bêta-lactamine )
- AB ayant une action sur la membrane (Polypeptides).
- AB inhibant la synthèse protéique par fixation sur le ribosome (Macrolides, Tétracyclines , Aminosides ).
- AB inhibant la synthèse des acides nucléiques (Quinolones , Sulfamides).

### II.3.2-Sensibilité aux antibiotiques :

Le large choix d'antibiotiques aujourd'hui disponibles permet de traiter la plupart des infections bactériennes. Ils connaissent cependant des échecs, souvent dus à la résistance développée par certaines bactéries [2].

Tableau (1) : Principaux antibiotiques[24].

	Familles ou molécules (modes d'action)	Principales molécules	Spectre
Antibiotiques à effets bactéricides	<b>Aminosides ou Aminoglycosides</b> (Inhibition de la synthèse des protéines).	<b>Gentamicine</b> <b>Streptomycine</b> <b>Tobramycine</b>	Large (sauf bactéries anaérobies). Les Streptocoques et les Listeria
	<b>Bêta-lactamines</b> (Inhibition de la synthèse du peptidoglycane).	<b>Méticilline</b> <b>Oxacilline</b>	Etroit (identique à Pénicilline G). Ces molécules sont moins actives que la pénicilline G mais elles ne sont pas inactivées par la Pénicillinase des Staphylocoques, d'où leur unique indication : Staphylocoques producteurs de Pénicillinase.
	<b>Polypeptides</b> (action sur la membrane externe des bactéries à Gram négatif et /ou sur la membrane cytoplasmique).	<b>Bacitracine</b> <b>Gramicidine</b> <b>Tyrocidine</b>	Etroit (bactéries à Gram+). Etroit (bactéries à Gram+). Etroit (bactéries à Gram+).
Antibiotiques à effets bactériostatiques	<b>Macrolides</b> (Inhibition de la synthèse des protéines)	<b>Erythromycine</b> <b>Roxithromycine</b> <b>Spiramycine</b>	Etroit (essentiellement coques à Gram positif, coques à Gram négatif, bacilles à Gram positif)
	<b>Quinolones de première génération</b> (Inhibition de la synthèse de l'ADN par blocage de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV).	<b>Acide oxolinique</b> <b>Acide piromidine</b>	Etroit (bacilles à Gram négatif)
	<b>Sulfamides</b>	<b>Sulfadoxine</b> <b>Sulfamoxole</b>	Large sauf certains entérocoques et les lactobacilles.
	<b>Tétracycline</b> (Inhibition de la synthèse des protéines).	<b>Chlorotétracycline</b> <b>Doxycycline</b> <b>Tétracycline</b>	Large.

Certains antibiotiques ont un mode d'action :

- Antibactériens à usage systématique.
- Anti-infectieux généraux à usage systématique.
- Anticancéreux.
- Anticoagulants.
- anticonceptionnels .

Ces antibiotiques agissent à des niveaux particuliers pour détruire ou empêcher la multiplication des germes selon la molécule antibiotique où le germe est combattu, c'est au niveau de la paroi bactérienne, de la membrane cytoplasmique, du chromosome ou des ribosomes que se déroulent les mécanismes aboutissant au contrôle de l'infection. La sensibilité d'un germe est déterminée par la méthode de l'antibiogramme [2].

#### **a-Antibiogramme :**

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

La méthode la plus employée est celle de la diffusion en gélose : un disque de buvard imprégné d'antibiotique est déposé dans une boîte de gélose où pousse une culture de germe à étudier. L'antibiotique diffuse dans la gélose, s'il est actif sur le germe, inhibe la croissance de celui-ci suivant un cercle concentrique au disque et plus ou moins grand selon la sensibilité du germe à l'antibiotique en question. Cet examen qui peut se faire simultanément avec plusieurs disques contenant des antibiotiques différents, permet le choix d'un antibiotique adapté lors d'une infection dont le germe a pu être isolé [3].

#### **b-Concentration minimales inhibitrice (CMI) :**

C'est la petite concentration d'antibiotique capable d'inhiber toute culture visible de la souche à étudier après 18 heures de culture à 37 C°. Elle caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique sur une bactérie. Elle s'exprime en mg/l.

### c-Concentration minimales bactéricide (CMB) :

C'est la plus petite concentration d'antibiotique, laissant un nombre égal ou inférieur à 0,01% de germes survivants par rapport à l'inoculum de départ après une culture de 18 heures à 37 C° [22].

- **Remarques :**

- Un antibiotique est bactéricide quand la **CMB** et la **CMI** sont très proches (Bêta-lactamines, Aminosides...) [22].

- Un antibiotique est bactériostatique quand la **CMB** et la **CMI** sont éloignées (Macrolide, Tétracyclines...) [22].

### II.3.3-Résistance aux antibiotiques : [2]

Une bactérie peut devenir résistante à un antibiotique du jour au lendemain.Elle a, à sa disposition, toute une gamme de mécanismes pour devenir résistante(Tableau 2).

- Elle peut bloquer l'antibiotique et l'empêcher de pénétrer dans sa structure.
- Elle peut excréter l'antibiotique qui a réussi à pénétrer mais sans pouvoir agir.
- Elle peut modifier la cible que cherchait à joindre l'antibiotique.
- Elle peut diriger la synthèse d'enzymes inactivant son action.

#### a-Les types de résistance :

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise :

La résistance naturelle est programmée sur le génome bactérien. À ce titre, elle constitue un critère d'identification.

La résistance acquise est consécutive à des modifications de l'équipement génétique chromosomique ou plasmidique. Elle n'est concernée que quelques souches d'une même espèce mais peut s'étendre : sa fréquence est variée dans le temps mais aussi dans l'espace-région, ville, hôpital ou même service. Elle constitue un marqueur épidémiologique.

**Tableau (2 ) : Mécanisme de résistance des bactéries aux antibiotiques [2].**

<b>Si l'antibiotique doit :</b>	<b>La bactérie peut :</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Pénétrer</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Devenir imperméable ou s'opposer à son transport.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Ne pas être modifié ni détruit.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Synthétiser des enzymes qui le modifient ou l'hydrolysent.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Se fixer à une cible.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Protéger la cible.</li></ul>

**b-Les niveaux de résistance :**

D'un point de vue bactériologique, on dit qu'une souche est résistante lorsqu'elle peut croître en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce. Il faut donc tenir compte d'un effet dose. On parle de **bas niveau de résistance** si la croissance est stoppée par de faibles concentrations d'antibiotique et de **haut niveau de résistance** si de fortes concentrations sont nécessaires.

**II.3.4-Mode d'action et spectre d'activité :**

On regroupe souvent les antibiotiques selon leur mode d'action par exemple, les Bêta-lactamides, la grande famille des Pénicillines et des Céphalosporines, interrompent la synthèse de la paroi cellulaire. D'autre modifient l'activité de la membrane cytoplasmique, le métabolisme de l'ADN ou de l'ARN, la synthèse protéique ou la respiration cellulaire, ou agissent à la fois de plusieurs façons.

Certains antibiotiques sont bactéricides, c'est-à-dire qu'ils détruisent la bactérie, tandis que d'autres, bactériostatiques, l'empêchent simplement de se multiplier. Enfin, certains antibiotiques seront bactériostatiques ou bactéricides, selon la dose.

Un antibiotique a un spectre d'activité **large** (Pénicillines, qui affectent la plupart des bactéries Gram positives et certaines Gram négatif, Tétracyclines, actives à la fois contre les bactéries Gram positives et négatives) ou **étroit** (Nystatine, qui n'agit que contre les champignons) selon qu'il s'attaque à plusieurs types de micro-organismes ou à quelques espèces seulement [10].

**II.3.5-Les antistaphylocociques : [21]**

**a-Vancomycine :**

**\*1 Mode d'action :**

La Vancomycine inhibe la synthèse de la paroi des bactéries sensibles.

**\*<sub>2</sub> Spectre d'activité :**

L'activité antimicrobienne in vivo de la Vancomycine est indiquée dans le tableau (3). Elle est limitée aux germes Gram positif.

**b- Teicoplanine :**

**\*<sub>1</sub> Mode et spectre d'action :**

Son mode d'action est similaire à celui de la Vancomycine et son spectre antibactérien est voisin.

Elle est modérément plus active in vitro contre les Staphylocoques (sensibles et résistants à la Méricilline) (Tableau 3).

**c-Rifampicine :**

**\*<sub>1</sub> Mode d'action :**

La Rifampicine inhibe spécifiquement l'ARN polymérase bactérienne.

**\*<sub>2</sub> Spectre d'activité :**

La Rifampicine est très active contre les coques Gram positif en particulier les Staphylocoques (coagulase positif et négatif, résistants et sensibles à la Méricilline) (Tableau 3).

**d-Acide fusidique :**

**\*<sub>1</sub> Mode d'action :**

L'Acide fusidique agit par inhibition de la synthèse des protéines.

**\*<sub>2</sub> Spectre d'activité :**

L'Acide fusidique est très actif in vitro contre les souches de *Staphylococcus aureus*. La plupart des Staphylocoques coagulase négatif sensibles et résistants à la Méricilline, sont également très sensibles à l'Acide fusidique à l'exception de *Staphylococcus saprophyticus* (Tableau 3).

Tableau (3): Spectre d'action ou schématique des agents anti-staphylococques [21].

	Vancomycine	Teicoplanine	Rifampicine	Acide fusidique
-Staphylocoques				
Meticilline-sensibles	+	+	+	+
Meticilline-résistants	+	+	+	+
-Autres coques Gram +	+	+	±	±

◀ **Un +** : Signifie que la **CMI-90** ( la concentration minimale inhibant la croissance de 90 % des souches testées) est plus petite que les taux sériques obtenus avec les doses usuelles.

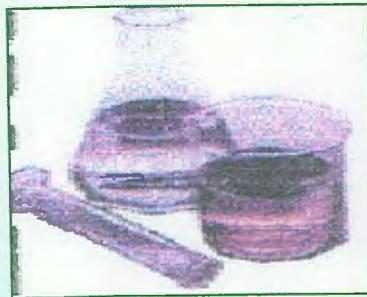
◀ **Un ±** : Signifie que les taux sériques usuels sont inférieurs à la **CMI-90**, mais que l'administration de fortes doses permet d'inhiber une grande partie des souches bactériennes.

◀ **Un -** : Signifie que l'antibiotique n'est pas efficace pour la majorité des bactéries en cause.

II.3.5.1- Les anti-*Staphylococcus epidermidis* :Tableau (4) : Anti-*Staphylococcus epidermidis* (% de sensibilité par ans )[13].

Antibiotiques	95/96	96/97
Erythromycine	43	41
Pénicilline	13	11
Oxacilline	44	42
Céfazoline	42	42
Ciprofloxacine	62	62
TMP-SMX	62	75
Vancomycine	100	100
Rifampicine	96	92

# Matériels & Méthodes



### III-Matériels et méthodes :

L'objectif principal de notre étude est la détermination de l'activité anti-*Staphylococcus epidermidis* d'un extrait brut de *Ranunculus repens L.* ; cela nécessite des tests bactériologiques par différentes méthodes in vitro au niveau du laboratoire afin d'établir l'influence de l'agent anti-infectieux sur la croissance du germe.

#### III.1-Matériels :

Notre matériel de travail est composé d'un matériel végétal (plantes et ses extraits) et des suspensions bactériennes à base de *Staphylococcus epidermidis*.

Les solvants organiques (éther de pétrole, acétate d'éthyle) sont des produits Merk alors que la plante *Ranunculus repens L.* a été récoltée dans les plaines de BENI-BELAID et dans les montagnes de TAXENNA.

Les souches de *Staphylococcus epidermidis* ont été isolées de différents produits pathologiques au niveau du laboratoire d'hygiène de la Wilaya de JILEL.

Les milieux de cultures (bouillon nutritif et gélose Muller-Hinton) sont issus de l'institut PASTEUR d'ALGER.

#### III.1.1-Préparation de l'extrait de plante :

Notre travail consiste l'étude d'une plante entière (racine, tige, feuilles et fleurs) appartenant à la famille des Ranunculaceae : *Ranunculus repens L.* c'est une plante sauvage qui pousse dans les prés et les endroits humides éparpillée ou rarement colonisée. On la récolte au printemps (Avril-Mai).

L'extraction de la plante "*Ranunculus repens L.*" est réalisée suivant les étapes :

- Séchage de la plante à l'air libre au laboratoire puis dans l'étuve à 50C° pendant 24 h.
- Broyage de la plante séchée sous forme de poudre fine puis son tamisage.
- Extraction :

On laisse 300g de l'extrait en poudre tamisé dans un mélange contenant 70%

Méthanol et 30% d'eau distillée pendant 24h. Après filtration de la solution on récupère l'extrait, en suite on élabore l'évaporation de l'alcool en utilisant le Rotavapor, enfin on récupère un résidu aqueux ; c'est l'extrait brut ou totum (total des principes actifs).

On ajoute à l'extrait brut 1/3 de l'éther de pétrole puis on met ce mélange dans une ampoule à décompter en mélangeant bien et on le laisse pendant 24h, ce ci permet d'obtenir une séparation de deux phases ; organique et aqueuse.

On récupère la phase organique et on fait l'évaporation du solvant. Le résidu sec obtenu et additionné à un volume d'eau distillé ;c'est l'extrait obtenu à partir de l'éther de pétrole.

On récupère la phase aqueuse et on ajoute 1/3 d'acétate d'éthyle, après 24h de décontation on élimine le solvant par évaporation et enfin on récupère le dernier résidu sec et on le dissolvé dans un volume d'eau distillé : c'est l'extrait obtenu à partir de l'acétate d'éthyle [25].

### III.1.2-Préparation des suspensions bactériennes :

#### \*<sub>1</sub> Prélèvement des échantillons :

Les échantillons sont prélevés de différentes manières par des techniques aseptiques, visant à prévenir la contamination de l'échantillon clinique avant son arrivée au laboratoire clinique.

Pour les échantillons de peau et de muqueuses (oreille, oiel, nez, gorge, plaie ouverte) on emploi le plus souvent un écouvillon stérile

Les échantillons de sang et de liquide céphalo-rachidien sont prélevés par aspiration à la seringue.

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

Les échantillons doivent avoir les caractéristiques suivantes :

- L'échantillon choisi doit représenter correctement la maladie infectieuse.
- La quantité prélevée doit permettre un examen complet.
- Le prélèvement de l'échantillon doit être fait avec soin afin d'éviter

une contamination par de nombreuses espèces bactériennes de la flore de la peau et de muqueuses.

- L'échantillon doit être prélevé avant l'administration d'agents antimicrobiens au patient [16].

### \*<sub>2</sub> Isolement des germes :

Après le prélèvement, on isole les germes en les ensemençant sur la gélose chapman.

On réalise la coloration de Gram pour déterminer la morphologie du germe (les cocci Gram (+) se groupent en grappe de raisin).

### \*<sub>3</sub> Identification :

On identifie le *Staphylococcus epidermidis* à partir du milieu chapman ; des colonies blanches et le milieu ne virent pas au jaune. L'identification est basée sur le test de la coagulase qui est négatif (Tableau.5).

Après les prélèvements, l'isolement et l'identification des germes ; on les ensemece sur les boites de pétri contenant la gélose nutritive. Les boitesensemencées sont conservées au réfrigérateur à + 4C°.

Les souches conservées sont ensuite ensemençées sur bouillon nutritif pour l'obtention des cultures jeunes afin d'évaluer l'activité anti-*Staphylococcus epidermidis* (activité antibiotique de l'extrait de plante).

Tableau(5) : Caractères biochimiques de *Staphylococcus epidermidis* [14].

Uréase	Nitrate	Glucose	Lactose	Saccharose	Coagulase	Phosphatase	Mannitol
+	+	+	+	+	-	+	-

## III.2-Méthodes :

### III.2.1-Evaluation de l'activité anti-*Staphylococcus epidermidis* :

#### a)Test de diffusion :

La technique de diffusion nous permet de gagner du temps et économiser du milieu en mettant en œuvre des disques. Son principe est relativement simple :

-Lorsqu'un disque imprégné de substance testée est placé sur la gélose préalablement inoculée avec la bactérie testée, il s'humidifie et l'extrait de plante diffuse radicalement du disque, dans la gélose. On obtient ainsi un gradient de concentration.

-La substance antimicrobienne est présente en forte concentration à proximité du disque et affecte des micro-organismes même faiblement sensibles (les organismes résistants se développent jusqu'au disque).

-Plus on s'écarte du disque, plus la concentration en substance anti-microbienne diminue et seules les bactéries pathogènes les plus sensibles sont affectées [16].

#### a-1-Préparation des disques :

- On découpe des disques du papier WATMAN avec un diamètre de 6 mm .
- On imprègne les disques préparés avec l'extrait de plante à l'aide de la pipette pasteur (1goutte à 2 gouttes), et on les laisse sécher (dans l'étuve ou par le sèche cheveux).

#### a-2-Test de diffusion élaboré :

- On coule la gélose Mueller-Hinton sur les boîtes de pétri et on les laisse refroidir .
- Préparation de la suspension bactérienne :

On met 10 ml d'eau distillée (à PH=7) avec une goutte du bouillon nutritif contenant le germe étudié dans un tube à essai stérile et on homogénéise la suspension par agitation.

#### Remarque :

- La préparation des disques doit s'effectuer à proximité du bec benzène.
- Les échantillons sont prélevés à partir de différents prélèvements pathologiques; sang, sperme et voie vaginale.

Une fois la suspension bactérienne préparée on effectue notre prélèvement :

- On casse l'extrémité entre deux doigts, on flambe la partie effilée en passant lentement deux fois dans la flamme et on laisse refroidir à proximité de la flamme, puis on introduit la pipette dans le tube et on prélève la quantité désirée.
- On passe à l'ensemencement des boîtes de la gélose Muller-Hinton avec une goutte de la suspension bactérienne à l'aide de la pipette pasteur par la méthode d'étalement.
- On place trois disques imprégnés de l'extrait sur la gélose ensemencée (un disque imprégné dans l'extrait brut ou totum, l'autre imprégné dans l'extrait à base de l'éther de pétrole et le dernier disque est imprégné dans l'extrait à base d'acétate d'éthyle), on place aussi un disque d'antibiotique de référence (Erythromycine : anti-*Staphylococcus epidermidis*) pour comparer l'évaluation antimicrobienne vis-à-vis de l'extrait de plante.

#### b) Test de dilution :

La méthode de dilution nous permet de déterminer les valeurs de la CMI (concentration minimale inhibitrice) et CMB (concentration minimale bactéricide).

##### \*<sub>1</sub> sur milieu solide :

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

- Pour chaque souche isolée des prélèvements (prélèvement vaginal, sperme, sang), on prépare 3 boîtes de pétri en mettant 1ml de l'extrait de plante.
- On coule la gélose Muller-Hinton fondue sur ces boîtes en prenant le soin de bien remuer pour homogénéiser le milieu.
- On laisse les boîtes refroidir puis on ensemence le germe dans chaque boîte.
- On incube à 37 C°. pendant 24 h.

##### \*<sub>2</sub> Sur milieu liquide :

- On prépare 5 tubes de bouillon nutritif contenant 0,5 ml (souche isolée à partir du prélèvement à partir du sperme seulement).

# Résultats

&

# Interprétations



- On met dans chaque tube une concentration d'extrait de plante (concentrations décroissante 1ml, 1/2ml, 1/4ml, 1/8ml, 1/16ml), on obtient un gradient de concentration.
- On inocule les tubes avec une population standard de l'organisme testé (environ une goutte de la suspension ).
- Enfin, on incube à + 37 C° pendant 24h.

## IV-Résultats et interprétations :

Les résultats de notre étude comportent :

- Les variations de sensibilité de *Staphylococcus epidermidis* aux extraits de *Ranunculus repens L.* selon la méthode de diffusion (disque).
- Les variations de sensibilité de *Staphylococcus epidermidis* aux extraits de *Ranunculus repens L.* selon la méthode de dilution (sur milieu solide et liquide).
- Evaluation de la CMI de l'extrait de *Ranunculus repens L.*
- Evaluation de la CMB de l'extrait de *Ranunculus repens L.*

### IV.1-Activité anti-*Staphylococcus epidermidis* de l'extrait de *Ranunculus repens L.* par la méthode de diffusion :

Les différentes fractions d'extraction à partir de *Ranunculus repens L.* testées contre *Staphylococcus epidermidis* selon la méthode des disques nous ont donné les résultats regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau (6): Variation de la sensibilité de *Staphylococcus epidermidis* aux extraits de plante (totum, éther de pétrole, acétate d'éthyle) selon la méthode de diffusion.**

Nature du prélèvement	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	Totum	Ether de pétrole	Acétate d'éthyle	Erythromycine(disque de référence).
Prélèvement vaginale	17mm	7mm	17mm	37mm
Sperme	18mm	7mm	8mm	27mm
Sang	18mm	7mm	7mm	37mm

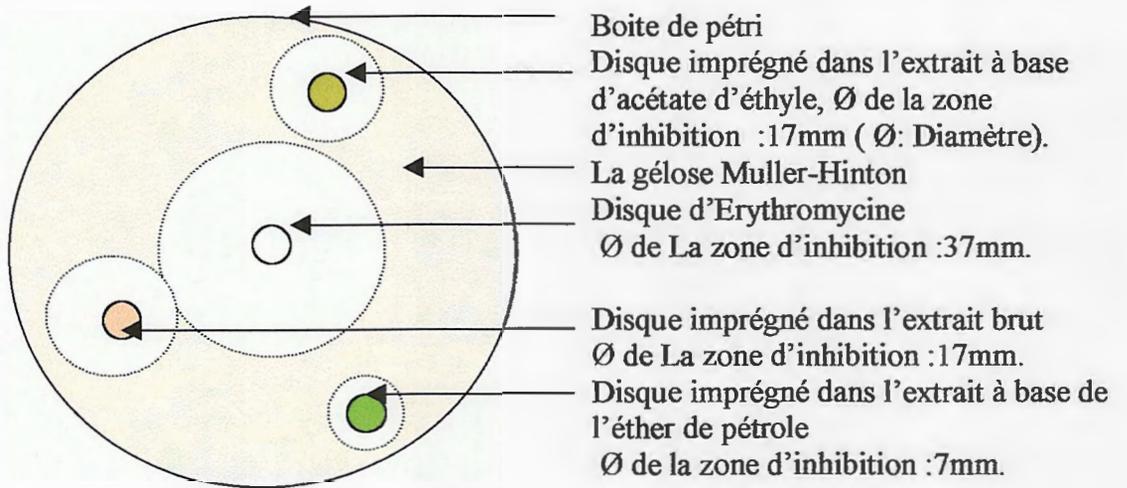
La détermination de l'activité est réalisée par le test de diffusion, en testant la sensibilité de *Staphylococcus epidermidis* vis-à-vis des extraits de la plante (totum, éther de pétrole, acétate d'éthyle) (Tableau 6), (fig.7-8-9).

Après ensemencement et incubation, le disque de référence Erythromycine présente une zone d'inhibition d'un diamètre de **27mm** pour la souche isolée du prélèvement du sperme, **37mm** pour les souches isolées du prélèvement du vaginal et du sang.

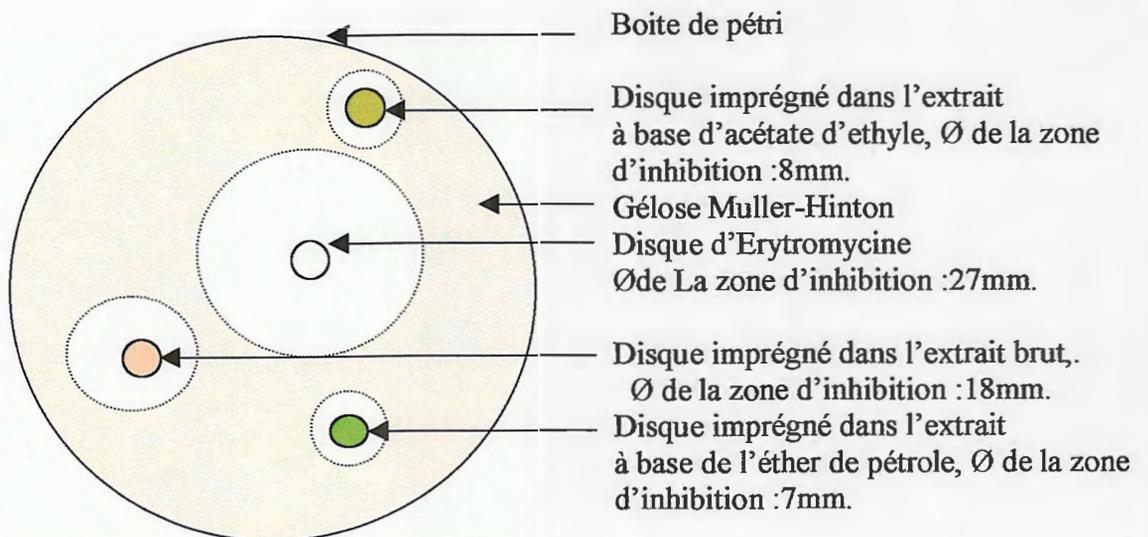
Pour les disques imprégnés dans l'extrait brut ou totum, nous avons remarqué la formation des zones d'inhibitions circulaires correspondantes à une absence de culture pour les souches de tous les prélèvements : **17mm** pour la souche isolée du prélèvement vaginal, **18mm** pour les souches des prélèvements du sperme et sang.

Par contre on a trouvé des zones d'inhibitions avec un diamètre négligeable de **7mm** pour toutes les souches de chaque prélèvement (prélèvement vaginal, sperme et sang) concernant les disques imprégnés dans l'éther de pétrole.

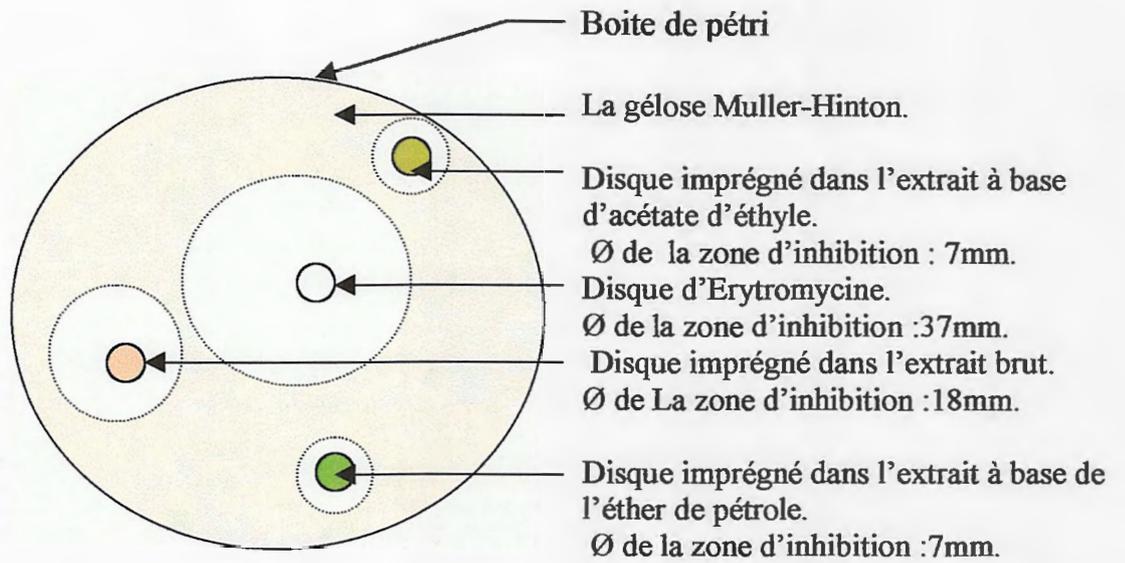
Cependant, on a obtenu avec les disques imprégnés dans l'acétate d'éthyle une zone d'inhibition d'un diamètre de **17mm** seulement pour la souche isolée du prélèvement vaginal, **8mm** et **7 mm** respectivement pour les souches isolées des prélèvements du sperme et du sang.



**Figure (7) : variations de la sensibilité de *Staphylococcus epidermidis* (prélèvement vaginal ) aux extraits de la plante « *Ranunculus repens* » par la méthode de diffusion.**



**Figure(8) :Variationsde la sensibilité de *Staphylococcus epidermidis* (prélèvement du sperme) aux extraits de la plante « *Ranunculus repens* » par la méthode de diffusion.**



**Figure (9): Variations de la sensibilité de *Staphylococcus epidermidis* (prélèvement du sang )aux extraits de la plante « *Ranunculus repens* » par la méthode de diffusion.**

## IV.2-Activité anti-*Staphylococcus epidermidis* de l'extrait de *Ranunculus repens L.* par la méthode de dilution :

### IV.2.1-Test de dilution sur milieu solide :

Tableau (7): Variations de la sensibilité de *Staphylococcus epidermidis* des extraits de *Ranunculus repens L.* (totum, éther de pétrole, acétate d'éthyle) selon la méthode de dilution ( sur milieu solide).

Extractions Nature du prélèvement	Totum	Ether de pétrole	Acétate d'éthyle
Prélèvement vaginal	-	+	-
Sperme	-	+	-
Sang	-	+	-

-.:Pas de pousse.

+ :pousse.

Ce tableau montre l'absence de pousse de colonies sur la gélose contenant l'extrait brut et à base d'acétate d'éthyle, par contre il existe une pousse avec l'extrait à base de l'éther de pétrole, ceci est expliquée par une observation visible des colonies et leur étalement sur la surface de la gélose nutritif.

Ces résultats montrent ainsi la sensibilité de *Staphylococcus epidermidis* aux extraits de plante contenus dans les phases utilisant l'acétate d'éthyle comme solvant et dans le totum (extrait brut), Par contre les principes actifs contenus dans la phase éther de pétrole semblent sans effets sur le *Staphylococcus epidermidis*.

#### IV.2.2- Test de dilution sur milieu liquide :

##### a)-Evaluation de la CMI de l'extrait de *Ranunculus repens L.* :

L'évaluation de la CMI est présentée dans le tableau suivant :

**Tableau (8) : Détermination de la CMI par le test de dilution sur milieu liquide**

Extraits	1ml	1/2ml	1/4ml	1/8ml	1/16ml
Totum	-	-	-	+	+
Ether de pétrole	-	+	+	+	+
Acétate d'éthyle	-	-	-	-	+

- : Absence de trouble.

+ : Présence de trouble.

Après incubation, nous avons obtenu la CMI de chaque extrait, qui est déterminée comme la plus faible concentration capable d'inhiber toute culture visible de la souche ou aucune croissance n'est visible.

- Pour l'extrait brut ou totum la CMI est égale à 1/4ml (fig.10).
- Pour l'extrait à base de l'éther de pétrole la CMI est égale à 1ml (fig.11).
- Pour l'extrait à base de l'acétate d'éthyle la CMI est égale à 1/8ml (fig.12).

#### Remarque :

- Chaque concentration de l'extrait est comparée à son propre témoin qui contient l'extrait et le bouillon nutritif.

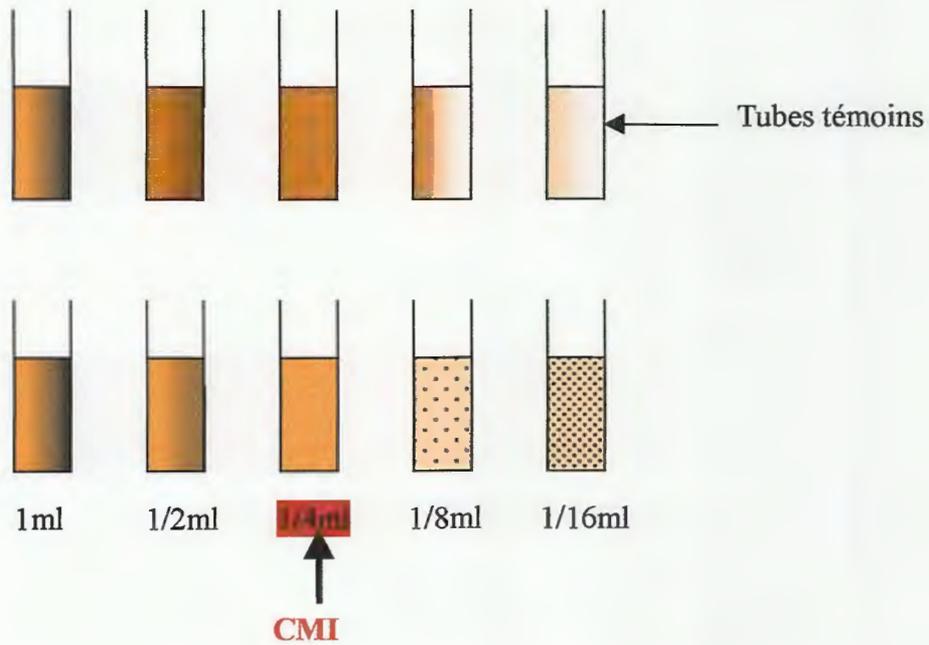


Figure (10) : La détermination de la CMI pour l'extrait brut ou totum

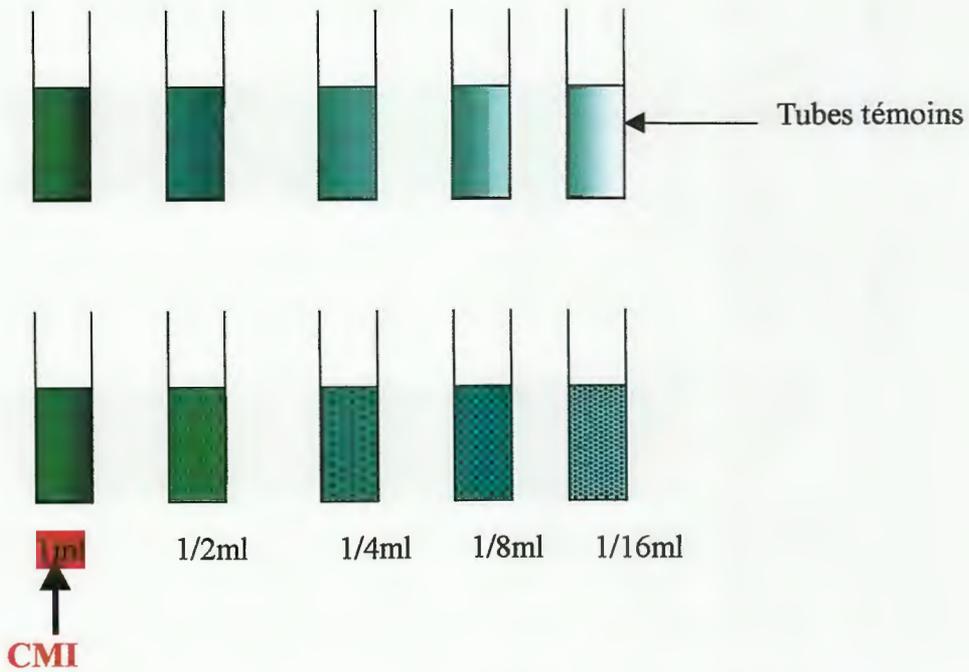
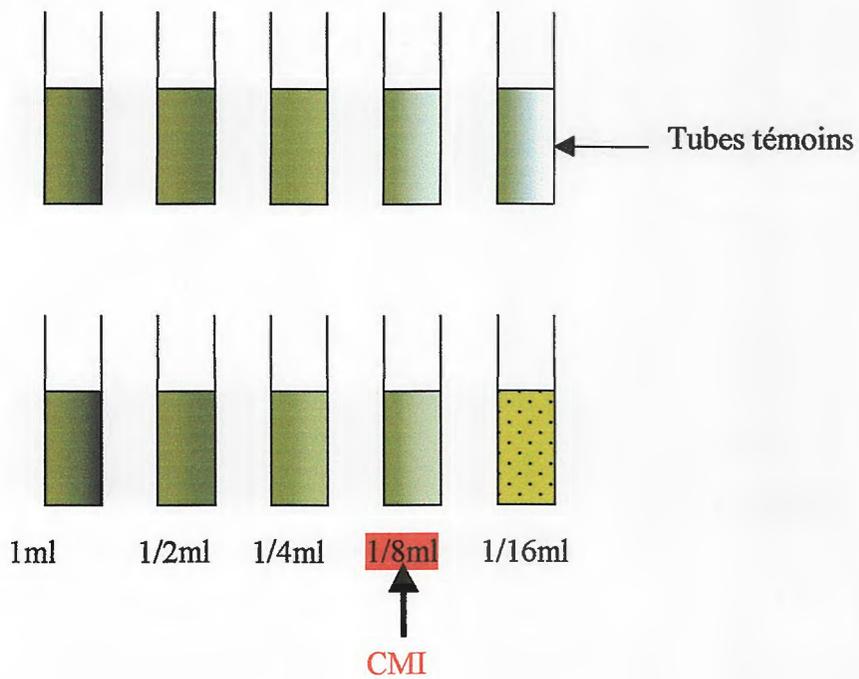


Figure (11) : La détermination de la CMI pour l'extrait à base de l'éther de pétrole.



**Figure (12) : La détermination de la CMI pour l'extrait à base de l'acétate d'éthyle.**

## b)-Evaluation de la CMB de l'extrait de *Ranunculus repens L.* :

L'évaluation de la CMB est présentée dans le tableau suivant :

**Tableau (9) : Détermination de la CMB par le test de dilution sur milieu liquide.**

Extraits	1ml	1/2 ml	1/4ml	1/8ml
Totum	+	+	+	/
Ether de pétrole	+	/	/	/
Acétate d'éthyle	-	-	-	+

- : Absence de trouble.

+ : Présence de trouble.

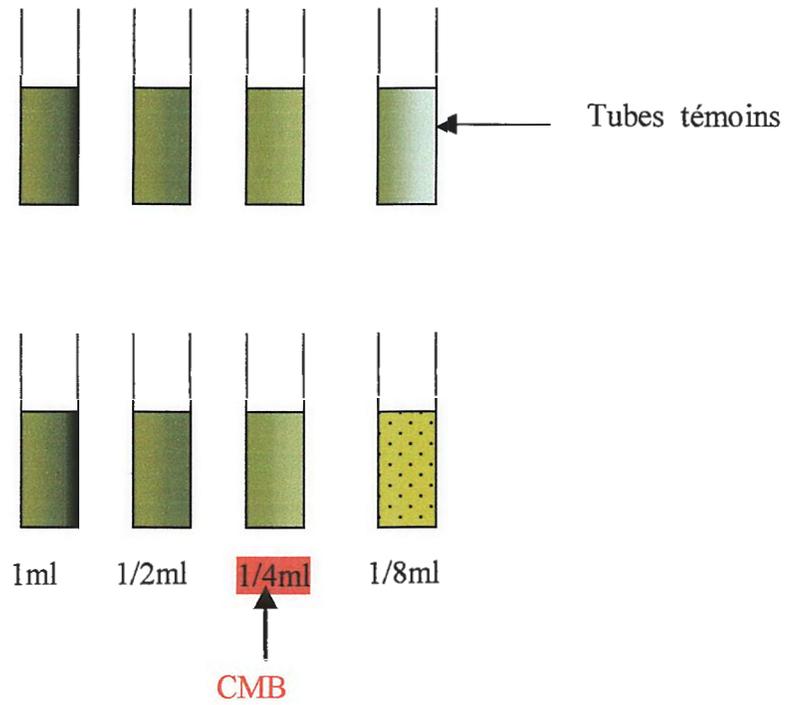
/ : La concentration de l'extrait avec laquelle on obtient un trouble dans le premier test de dilution (détermination de la CMI).

Après incubation, la CMB de chaque extrait est déterminée par le premier tube dans lequel aucune croissance n'est visible à l'œil nu.

Pour le totum on a pas pu déterminer la CMB car il existe un trouble dans les trois tubes. On conclue donc que l'extrait brut à une action bactériostatique.

Pour l'extrait à base de l'éther de pétrole on a pas pu déterminer la CMB par ce qu'il existe un trouble dans le tube qui contient 1ml de l'extrait.

Pour l'extrait à base d'acétate d'éthyle, la CMB est déterminé dans le tube qui contient la plus faible concentration pour laquelle il n'existe aucun trouble visible à l'œil nu. La CMB est égal à 1/4 ml (fig.13), donc l'extrait à base d'acétate d'éthyle possède une action bactériostatique et bactéricide.



**Figure (13) : La détermination de la CMB pour l'extrait à base de l'acétate d'éthyle .**

# Discussion

## V-Discussion :

La recherche dans le monde végétal de molécules chimiques actives en phytothérapie reste toujours un domaine de recherche ouvert.

La guérison de la plaie infectée du chien par un pansement d'une plante fraîche *Ranunculus repens L.* dans la Wilaya de JIJEL, a incité certains scientifiques [28] d'exploiter cette plante *in vitro* pour constater une activité antibactérienne de l'extrait de cette plante.

Une recherche a été effectuée par un groupe dans le cadre de soutenance de mémoire [23], qui a pu déterminer cette activité à partir de l'extrait de plante sèche *Ranunculus repens L.* ; il a remarqué une sensibilité légère du germe *Staphylococcus epidermidis* à l'extrait de cette plante.

Notre étude est basée sur l'évaluation de l'activité anti-*Staphylococcus epidermidis* à partir de l'extrait de la plante sèche *Ranunculus repens L.* et ses fractions séparées sur deux solvants (acétate d'éthyle et l'éther de pétrole).

Nos résultats ont montrés :

-Une activité avec l'extrait brut et l'extrait à base d'acétate d'éthyle, ainsi qu'une légère sensibilité de la bactérie avec l'extrait à base de l'éther de pétrole dans le test de diffusion , ceci nous laisse penser que les principes actifs présents dans chaque extrait préparés sont actifs sur les infections à *Staphylococcus epidermidis*. On peut obtenir des résultats meilleurs si on utilisera des disques imprégnés d'antibiotiques de la même qualité et stabilité que ceux commercialisés[21].

-Une sensibilité du germe *Staphylococcus epidermidis* aux extraits de la plante, sauf pour l'extrait à base de l'éther de pétrole, dans le test de dilution sur milieu solide. Cependant on a remarqué une inhibition de la croissance du germe

avec chaque extrait dans le test de dilution sur milieu liquide. Ce test nous a permis de déterminer la concentration minimale inhibitrice **CMI**. À partir de cette dernière, on a obtenu la concentration minimale bactéricide **CMB**.

# Conclusion

## VI-Conclusion :

La médecine par les plantes est très ancienne et actuellement on y recourt le plus souvent pour les traitements curatifs. Cette médecine se développe à grand pas au fur et à mesure que les chercheurs maîtrisent ces plantes.

L'étude des plus anciennes plantes médicinales tel que *Ranunculus repens L.* a montré que l'extrait brut de cette plante(*Ranunculus repens L.*) et ses fractions ont une triple activité: bactériostatique, bactéricide ou les deux à la fois .En effet , l'étude de cette activité est réalisée par deux tests complémentaires :

-Le test de diffusion avec lequel, on a déterminé l'évaluation de l'action des extraits de la plante sur la croissance du germe *Staphylococcus epidermidis*, en mesurant sa zone d'inhibition sur la gélose Muller-Hinton.

-Le test de dilution sur milieu solide et liquide, qui nous a permis de déterminer les valeurs de la concentration minimale inhibitrice **CMI** et la concentration minimale bactéricide **CMB**.

Ainsi, nous pensons que l'extraction des principes actifs de *Ranunculus repens L.* peut permettre d'élaborer des médicaments anti-*Staphylococcus epidermidis*.

# Bibliographie

- [1] **ANNEZ Y., CHACHERA J-M., COUCHOT E.**, Flore bactérienne de la peau, site internet, 1999.p :1.
- [2] **BONHOMME J-P., BOUCHARD M.**, L'encyclopédie de l'Agora : Antibiotique, site internet, 2001.p :1-2-4-5.
- [3] **BRION J-P.**, Antibiotique : règle d'utilisation, site internet, 1995.p :3
- [4] **BRUNETON J.**, Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 1996.p:396.
- [5] **CENTRE ARICO, direction des services technologiques mapaq**, Guide d'identification des mauvaises herbes, site inetnet, 1999.p :1-2-5.
- [6] **CHAREYE C., GENTILS R.**, Guide illustré du bien-être phytothérapie, 1999.p: 6-8616-18-30-140-141.
- [7] **DABERNAT H., et collaborateurs**, Bactériologie clinique, 1988.p :13
- [8] **DENGUEZLI M.**, Les dermatoses bactériennes, site internet, 2001.p: 2
- [9] **FLANDROIS J-P., FLANDROIS C.**, Antibiothérapie base bactériologiques, site internet, 1997.p:1-2-3.
- [10] **GAUTHIER E.**, Les antibiotiques : L'envers du miracle, volume 1, site internet, 1993.p :1-2.
- [11] **LEDARD F., CHARBOL J-P.**, Les plantes médicinales, Edition Algo vision 1997.p : 6-7-8.
- [12] **MARCHAL N., et collaborateurs**, Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification des bactéries, 1982.p :31-32-38.
- [13] **MRCOUX J-D.**, *Staphylococcus epidermidis*, site internet, 1997.p :1.
- [14] **PERELMAN R.**, Pédiatrie pratique :maladie infectieuses ,Edition Maloine, 1990.p :1219.
- [15] **POLETTI A.**, Fleurs et plantes médicinales, 1982.p:10-11-57-104.

- [16] **PRESCOTT, HARLEY, KLEIN**, Microbiologie, 1995.p :328-329-673.
- [17] **PUUGET P.**, Infections cutanées bactériennes, site internet, 1999.p : 2-3.
- [18] **PUISSANT A., et collaborateurs**, Dermatologie, Edition Ellipse, France, 1994.p:113-116-117.
- [19] **RAVANAEL P.**, Renoncule bulbeuse, site internet, 2000.p :1-2.
- [20] **READER'S DIGEST**, Secrets et vertus des plantes médicinales, 1982.  
p : 364.
- [21] **SCHORDERT M., et collaborateurs**, Pharmacologie, Tome2, 1992.p :721
- [22] **TAGLANG F.**, Les antibiotiques, site internet, 2000.p: 1-2.
- [23] **TANOUGAT L., LALLOUTI A.**, Etude de la recherche de nouvelles substances antibiotiques à partir d'un extrait de plante (*Renonculus repens*) :étape de screeing,, 2000.p :44 -46.Mémmoire de fin d'étude-Constantine-
- [24] **UZEBY J-P.**, Dictionnaire de bactériologie vétérinaire, site internet, 1998.  
p :1-2-4-7.
- [25] **ZELLAGUI A.**, Méthode d'extraction des flavonoïdes et alcaloïdes compte Rendu du Siminaire National sur les Plantes Médicinales.  
-Institut de biologie- Centre Universitaire de JIJEL 07-08 mai 2001.  
p:18-19.
- [26] **http : // www.Yahoo.fr.**, Données encyclopédiques : Les plantes médicinales, site internet, 2001. p:1-2-3-4.
- [27] **http : // www.Yahoo.fr.**, Données encyclopédiques : Les renoncules, site internet, 2000.p :1-2.
- [28] **LAOUER H., SAHLI F.**, Les XII ème journées nationales de microbiologie Constantine, 2000.

# Annexes

## **Annexe 1 :**

### **Composition des milieux utilisés :**

#### **1) Milieu chapman : [23]**

(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 : [12]**

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

#### **3) Milieu gélose nutritive : [12]**

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

#### **4) Milieu de Muller-Hinton : [12]**

- Infusion de viande de bœuf .....300gr
- Hydrolysate de caseine .....75,5gr
- Amidon .....1,5gr
- Gélose .....10gr

## ***Annexe 2 :***

### **Coloration de Gram :**

La coloration de Gram permet de distinguer 2 principaux groupe de bactéries : Gram positif et Gram négatif.

### **Technique de coloration :**

- Placer la lame horizontalement sur un porte-lame après fixation du frottis par l'alcool :

- Ajouter le violet de gentiane pendant une minute, rincer à l'eau.
- Ajouter du lugol pendant une minute, rincer à l'eau.
- Ajouter de l'alcool pendant 30 secondes, rincer à l'eau.
- Ajouter de la fuchsine pendant une minute, rincer à l'eau.
- Sécher la lame et faire la lecture au microscope (objectif x100 ) avec l'huile de cèdre [23].

## Annexe 3:

### A

- **Abcès:** Amas de pus collecté dans une cavité formée aux dépens des tissus environnants déteruits ou refoulés.
- **Analésique:** Médication supprimant la douleur (analgésie: disparition de la sensibilité à la douleur).
- **Anticancereux:** Qui est employé dans la prévention ou le traitement du cancer.
- **Antiguagulant:** Se dit d'un corps qui empêche ou retarde la coagulation du sang.
- **Anti-conceptionnel :** Qui empêche la fécondation ; contraceptif.
- **Anti-inflammatoire :** Réduit les inflammations, par exemple le chou, la camomille.
- **Antiseptique :** Tue les microbes et prévient les infections. par exemple l'ail ; le miel, la plupart des huiles essentielles.
- **Antispasmodiques :** Ce dit d'un médicament qui calme les spasmes. (spasmes : contraction pathologique des muscles et spécialement des muscles lisses).
- **Arthrite :** Inflammation d'une articulation.

### B

- **Bourbillon :** Tissu mortifié, blanchâtre, qui occupe le centre d'un furoncle.

### C

- **Commensale :** Espèce commensale ; qui vit associer à l'autre en profitant de ses débris et ses repas, mais sans lui nuire.

### D

- **Déplicative :** Qui à la propriété de dépurier l'organisme.
- **Dialyse péritonéales :** Utilisant le péritoine comme membrane d'épuration, après injection d'un soluté.

### E

- **Extrait :** Solution qui recueille une partie des principes actifs de la plante soumise à un traitement.

### H

- **Homéopathie :** Système de soins qui consiste à traiter les maladies par des doses très faibles de substances qui déterminent, à fortes doses, chez l'homme sain, des symptômes analogues à ceux que l'on combat.

## I

- **Iatrogène** : se dit d'une infection causée par les traitements médicaux ou les médicaments, en parlant d'une maladie, d'un accident morbide.
- **Induration** : Durcissement anormal d'un tissu ; partie indurée.
- **Inoculum** : produit introduit par inoculation.
- **Irritation** : Inflammation légère d'un tissu, d'un organe.

## M

- **Myalgie** : Douleur musculaire.

## N

- **Nasal** : Point situé à la racine du nez au milieu de la suture nasofrontale.
- **Nécrose** : Mort d'une cellule ou d'un groupe de cellules à l'intérieur d'un corps vivant .
- **Névrалgie** : Vive douleur d'origine nerveuse.
- **Nosocomiale** : Se dit d'une infection contractée lors d'un séjour en milieu hospitalier.

## P

- **Papule** : Lésion élémentaire de la peau, caractérisée par une élévation solide, de forme variable (Conique, hémisphérique, à facettes) et disparaissant au bout d'un certain temps sans laisser de cicatrice.
- **Péritonite** : Inflammation du péritoine (membrane séreuse qui revêt la plus grande partie de la cavité abdominale et les organes qui y sont logés).
- **Pétioles** : Partie rétrécie reliant le limbe d'une feuille à la tige.
- **Pharmacopée** : Art de préparer les médicaments.
- **Pilo-sébacé** : Relatif au poil et à la glande sébacée qui lui est annexée.
- **Posologie** : Etude des doses thérapeutiques des divers médicaments suivant l'âge, le sexe et l'état du malade.

## S

- **Spectre d'un antibiotique** : Partie de la flore microbienne sur laquelle l'antibiotique exerce son action bactériostatique ou bactéricide.
- **Suppuration** : Production de pus.

## T

- **Toxicologie** : Science traitant des poisons, de leurs effets sur l'organisme et de leur identification.

## U

- **Ubiquitaire** : Faculté d'être présent en plusieurs lieux à la fois.

**Titre :**

**Evaluation de l'activité anti-staphylococcus epidermidis d'un extrait brut  
de la plante *Ranunculus repens L.***

**المخلص:**

النباتات الطبية تحتوي على مجموعة من المركبات النشطة، التي حمست العلماء المختصون في ميدان الطب العشبي بدراسة وتحليل ومحاولة فهم طريقة تأثير هذه المركبات على مختلف الأمراض.  
إن العمل الذي قمنا به يركز على تأثير مستخلص نبتة "*Ranunculus repens L.*" عائلة *Ranunculaceae* التي توجد في جبال ولاية جيجل على بكتيريا *Staphylococcus epidermidis*.  
لقد بينت دراستنا حساسية البكتيريا لهذا المستخلص (المستخلص الخام-مستخلص إثر البترول-مستخلص اسيتات الاتيل) التي استنتجت انطلاقا من إجراء اختبائي الانتشار والتخفيف (على الوسط السائل و الصلب).  
في النهاية، نستنتج أن نبات « *Ranunculus repens L.* » يملك مركبات نشطة ذات تأثير فعال على بكتيريا *Staphylococcus epidermidis*.

**Résumé :**

Les plantes médicinales contiennent des composés extrêmement complexes ; de dizaines, voire de centaines de principes actifs, qui passionnent les scientifiques actuels. Chaque année, les chercheurs spécialisés dans ce domaine étudient, analysent et essaient de comprendre le mode d'action de certaines plantes. La réalisation de beaucoup de découvertes en phytothérapie a pour effet l'utilisation massive des plantes médicinales.

Notre étude est basée sur l'évaluation de l'activité anti-*staphylococcus epidermidis* à partir de l'extrait brut de *Ranunculus repens L.*, qui est une plante appartenant à la famille des *Ranunculaceae*, récoltée dans la région montagneuse de la Wilaya de JIJEL. Nous avons expérimenté l'activité antistaphylococcique de la plante avec deux solvants différents : acétate d'éthyle et l'éther de pétrole.

Nos travaux ont montré une sensibilité nette de la souche *Staphylococcus epidermidis* vis-à-vis de l'extrait de *Ranunculus repens L.*, qui se traduit par deux actions : l'une bactériostatique, l'autre bactéricide. Ils ont été mis en évidence par deux testes : test de diffusion, et test de dilution (sur milieu solide et liquide).

Nous avons conclu, à la fin de notre étude, que *Ranunculus repens L.* contient des principes actifs qui ont un effet bactériostatique et bactéricide sur les infections provoquées par *Staphylococcus epidermidis*.

**The summary:**

The medicinal plants are extremely complex compounds, of tens and even hundreds of active principals, which fascinate current scientists. Every year the researchers specialized in this field; study, analyse and try to understand certain plants' action method. Many discoveries in phytotherapy result the massive use of medicinal plants.

Our study is based on the evaluation of the anti-*staphylococcus epidermidis*' activity from the raw extract of "*Ranunculus repens L.*", a plant, which belong to *Ranunculaceae* family, harvested in JIJEL's mountains. we've tested the activity anti-staphylococcic of this plant with two thinners: acetate d'ethyl et l'éther de pétrole.

Our works have shown a clear sensibility of the stump *Staphylococcus epidermidis* towards the *Ranunculus repens*' extract which is indicated by two actions: one bacteriostatic, the other bactericid they've been proved by two tests: diffusion test and dilution test (on a solid and liquid background).

At the end of our study, we've concluded that *Ranunculus repens L.* contains active principles which have

**Mots-clés :** Plantes médicinales - *Ranunculus repens L.* - Extrait de plante - *Staphylococcus epidermidis* - Antibiotiques - Activité anti-*staphylococcus epidermidis*.

**Responsable de recherche :**

Madame: ROULA Sadjia.