

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL

*Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du
diplôme
D'études supérieures en biologie*

Option : Microbiologie

Thème

**L'extraction de la plante médicinale : lavande vraie et l'étude
de l'association des ces constituants avec les antibiotiques
Sur des souches bactériennes**

Membres de jury :

Président : SEGNI . N
Examineur : LAGGOUNE . S
Encadreur : BOULKOUR . S



Réalisé par :

- ABDELMOULA HAYET
- ZOUIKRI HANIA
- BOUHENNA WIDAD

Promotion 2005



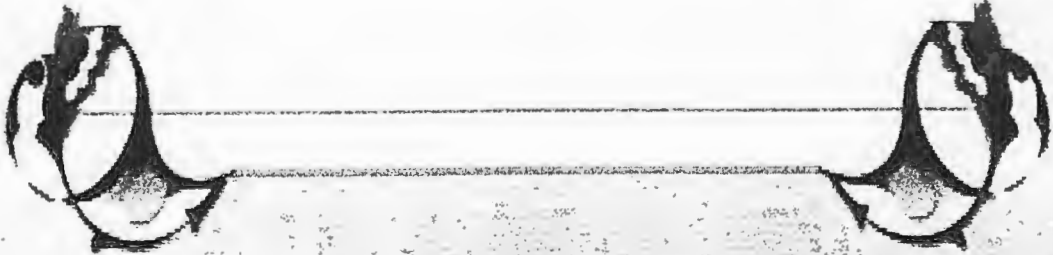
Remerciements

*Au terme de ce travail , il nous est agréable de
remercier tous ceux qui de pré on de loin ont contribué
à son élaboration et nous tenons à exprimer nos
plus sincères remerciements et notre profonde
gratitude à M^{elle} Soraga Boulkour d'avoir accepté de
diriger ce travail .*

Nous remercions les jury : M^{elle} Segni et M^{elle} Laggoune.

*Nous remercions les personnels du laboratoire de
biologie et ceux de laboratoire d'hygiène et surtout
M^{elle} ouazina , M^r louniss et M^r Zabayou .*

*Nos remerciements aussi à M^{elle} narimen qui nous a
aidé dans l'établissement de ce mémoire .*



SOMMAIRE

Introduction	1
Analyse bibliographique	
I- Généralités sur les plantes médicinales	2
I-1- les lavandes.....	2
I-1-1 Généralités.....	2
I-1-2 Classification.....	3
I-2-Principes actifs élaborés par la lavande vraie	5
1- Les Alcaloïdes.....	5
2- Huile essentielle.....	5
3- Flavonoides.....	5
3-1-Définition.....	5
3-2- Découverte.....	6
3-3- Origine et localisation.....	6
3-4 Structure et classification.....	6
3-5- Propriété des flavonoides.....	7
3-6-Activité pharmacologique des flavonoides.....	7
II- Les Antibiotique.....	9
II-1- Généralités sur les antibiotiques.....	9
II-2- origine des antibiotiques.....	9
II-3- Cibles bactériennes des antibiotiques.....	10
II-4-Paramètres pharmacodynamiques des antibiotiques.....	12
II-5-Resistance des bactéries aux antibiotiques.....	12
II-6-Classification.....	13
II-7-L'utilisation thérapeutique des antibiotiques.....	23
III- Les bactéries	26
❖ Définition.....	26
❖ Les bactéries Gram (+) et (-).....	26
III-1-Bacilles Gram négatifs	27
III-1-1-Famille des Entérobactériaceae	27
III-1-2- Famille des Pseudomonadaceae.....	33
III-2- Cocci Gram positifs.....	34

MATERIELS ET METHODE

I-1-Objectif.....	36
I-2-Préparation des suspensions bactérienne.....	36
I-3-Evaluation de l'activité antibactérienne.....	38
I-3-1-Test de diffusion en gélose.....	38

I-3-1-1- Principe.....	38
I-3-1-2- Technique.....	38
📖 -Résultats.....	40
📖 Discussion et interprétation.....	49
📖 -Conclusion.....	51
📖 -Annexes	
📖 -Bibliographie	

Introduction

I . Introduction

Les plantes médicinales ont toujours eu un rôle de grande importance sur la santé de l'homme et sur la survie de l'humanité. Jadis les civilisations donnaient aux plantes des pouvoirs magiques plutôt que des vertus thérapeutiques .

Le premier recueil concernant les plantes médicinales est le papyrus égyptien Ebers qui date de 1500 J.C et traite d'une petite douzaine de plantes et de leur vertus.Parmi les plantes médicinales utilisées en thérapie , on note « lavande vraie » qui a été découverte par le chimiste français « René – Maurice Gattefossé » en 1928 , celui – ci plongeait , par réflexe , sa main brûlée dans de l'huile de « lavande » pure , quel ne fut son étonnement en la voyant guérir rapidement sans s'infecter.

Les remèdes naturels sont souvent mieux tolérés que les médicaments préparés industriellement ;à cause de l'apparition des bactéries résistantes à certains antibiotiques.

Devant ce problème , les chercheurs ont dirigés vers l'association des antibiotiques , pour augmenter la zone d'inhibition de la pousse bactérienne .

Le domaine majeur de l'aromathérapie, est la pathologie infectieuse :les pouvoirs antiseptiques , bactériostatiques , antibiotiques , antifongiques(SITE ,1) et (SITE ,2)

L'objectif de notre recherche consiste à mettre en évidence l'existence d'une éventuelle activité antibactérienne à partir de l'extrait de la plante « lavande vraie » associé à des antibiotiques .

Analyse bibliographique



PLANT
LEAF
FRUIT
SEED

I. Généralités sur les plantes médicinales .

En botanique et en pharmacies , les plantes médicinales sont reconnues pour offrir , par leur administration , un effet bienfaisant et thérapeutique sur l'organisme . employées de puis la plus haute antiquité .Les plantes médicinales redeviennent actuellement une importante culture agricole et économique servant a l'isolement et à la production de matière première nécessaire à la fabrication de médicaments élaborés . En effet les remèdes a base de plantes ont un grand avantage par rapport au traitement chimique . (UNIVERSALIS, 2004)

Leur matières actives sont toujours biologiquement équilibrées par la présence de substance annexes et leur liaisons sont si bien qu'elles ne s'accumulent pas dans l'organisme et que leurs effets néfastes sont limités exception fait aux substances virulentes des plantes vénéneuses qui ne doivent jamais prescription du médecin . (MENSUEL,1996)

Il existe de nombreuses façons d' utilisation des plantes en phytothérapie :

1- les formes traditionnelles : (infusion , décoction , cataplasme).

2- Les formes actuelles :

*poudre totale micronisée en gélules ,

* Les extraits nous : qui obtenues par évaporation d' un extrait liquide jusqu' à la consistance voulue .

*les suspensions intégrales de plantes fraîches en flacons doses .

*Les extraits secs , liquides et hydro-glycoliques .

* Les essences ou l'huiles essentielles .(SITE, 1)

I.1.Les lavandes :

I.1.1. Généralités :

L'étymologie de la lavande viendrait de lavare qui signifie laver. D'où le nom des lavandières le linge . les Romains et les Egyptiens profetaient déjà des qualités aromatiques de la lavande aux thermes et ils en parfumaient leurs vêtements et leurs bains .(SITE, 2)

Les lavandes sont des plantes aromatiques de la familles des labiées , c'est un arbrisseau prsentant un tige fortement ramifié , portant des rameaux herbacs densment couverts de feuilles lineaires ces tiges se terminent par des epis impairs de fleurs bleutes. Toute la plante dégage une odeur agréable (DJERROUMI etNACEF,2004)

La lavande tient son parfum et ses vertus désinfectantes de ses huiles volatiles , ce sous arbrisseau vivace est spontanée dans les régions méditerranéennes sur les coteaux ensoleillés et les montagnes jusqu' à 1800 m d'altitude .(MAXWICH). (LASLO,2000)

I.1.2.Classification :

Familles : labiées

Geure : Lavandulae :

plantes aromatiques vivaces à fleurs bleutées , deux espèces du geures sont utiliseés dans le secteur de la parfumerie et de la cosmétologie : lavande vraie (L- angustifolia = L- officinalis) et de lavande aspic Les lavandius ; hybrides des deux espèces précédentes (L-hybrida) , sont également utilisés pour la production d'huile essentielle [JEAN,1993].

***emploi en pratique populaire : utilisation traditionnelle**

La lavande parfume mais aussi désinfecte , cicatrise , calme est stimule , tonifie et régularise , cela depuis des millénaires. elle servait aux Romains à préparer leur bains on l'utilisait sous forme d'huile , pour badigeonner le bois des lits afin de chasser les punaises .Bien avant qu'on découvre l'existence des microbes responsables des infections et qu'on invente les serums antivenineux l'employait , en huile , teinture ou essence , pour panser les plaies de blessés par arme blanche . (SITE, 1)

A- Espèce : Lavande aspie

Synonyme : lavendula spica, aux feuilles larges et longues hampes florales , elle pousse sur des trrains calcaires secs (entre 200 et 500 m d'altitude)[JEAN,1993].

B –Espèce :La lavende sauvage

Synonyme : lavande – stechas .Il s'agit d' un sons arbrisseau . l'inflorescence en forme d'épis , brièvement pédonculés , ovoïdes quadrangulaire, mesurant 1 Cm et demi à 2 Cm de longueur sur 5 mm de largeur chaque épis est surmenté de grandes bractées stériles , membraneuses de coloration bleu – violet

Propriétés thérapeutiques :

Pectorale , stomachique , antispasmodique , sédatif et diaphorétique [YAHIA].

C –Espèce :lavande vraie

-Famille : labiées

-Synonymes : faux nard , grande robe , lavande femelle , nard d' Italie

-Nom botanique : *lavandula officinalis* , *L. angustifolia* , *L. vera* .

-All : lavendel .

-Angl : lavender .

-Nom vernaculaire : Khezzama .

- Description : sous arbrisseau annuel à rameaux simples , dressés très ramifiés , verts grisâtres de 30 à 50 cm de haut .

- Feuilles : opposées , lancéolées , étroites , roulées sur les bords , étroites , de couleur vert cendré [YAHIA].

-Fleurs : petites , striées de couleur bien violacé groupées en épis grêles de glomérules pauciflores et à larges bractées elles sont duveteux à 5 lobes . corolle tubulée à 2 lèvres [MAHMOUDI].

-Fruits : tétrakènes , ovale , allongé , marron foncé .

-Odeur : très aromatique .

-Saveur : agréable et amère .

- Habitat : espèce originaire de l'ouest du Bassin méditerranéen [GRUND,1986]. En Algérie elle est cultivé dans la daïra de Sebdou (Wilaya de Tlemcen) .

-Récolte : on récolte pour la médecine la tige avec les fleurs , en été .

Propriétés thérapeutiques : la lavande vraie est l'espèce la plus répandue et la plus importante grâce à ses propriétés thérapeutiques diverses :

Légèrement sédatif , elle est aussi diurétique , vermifuge et stimulante . Elle donne des résultats probants contre les maux de tête , les vertiges , la nausée . Par voie interne , elle est utilisée en cas de nervosité trouble du sommeil , problèmes fonctionnels de l'abdomen. (DJEROUMI,2004)

En balnéo thérapie ; traitement des problèmes circulatoires fonctionnels [MAXWICH].

Elle est un excellent agent cicatrisant , un puissant antiseptique ,antiviral , antibiotique et favorise le renouvellement cellulaire . Elle aide à la cicatrisation des lésions cutanées . c'est aussi un excellent nettoyant pour les peaux grasses et acnéiques .(SITE, 1)



(SITE , 1)

I.2.Principes actifs élaborés par la lavanderaie

Les plantes contiennent une infinité d'éléments actifs pouvant calmer les irritations et renforcer les parois capillaires tout en favorisant l'élimination des toxines on en combattant l'infection .

Parmi les principales familles des substances actives élaborées par la *lavande vraie* on peut citer :

1.Les Alcaloides :

ce sont des métabolites secondaires .Dans ces composés , le groupe contenant l' azote a en général été transformé en un hétérocycle , il leur confère un caractere basique (d' ou leur nom , attribué par neissner en 1819 : «comme un alcali » ,d'autre éléments constitutifs en particulier des groupes méthyle et acétyle , des unités en C₅ et C₁₀ , des dérivés de l'acide cinnanique et des composés phénoliques .

Environ 10 à 15 % des plantes vasculaires synthétisent des alcaloides ,le plus souvent se trouvent sous la forme de sels d'acides orgniques solubles dans l'eau . On les trouve principalement chez les monocotylédoues et et les dicotylédones . On les rencontre sporadiquement chez les animaux comme la bufoténine chez le crapaud sud – Américain
Tout les organes de la plantes peuvent en contenir .Les propriétés des alcaloides sont diverses , nombreux ont une action sur le système nerveux , certains paraissent servir de moyens de dissuasion chimique contre les prédateurs , le gout assez ammer caractéristique de nombreux alcalaloides et leur toxicité vis -à- vis les homéothermes jouant un role certain.[GERHARD ,1993].

2 . Huile essentielle :

contenant principalement des monoterpènes (huile essentielle de lavande PH . eur [ADDENDUM,1999] constituants majeurs : acétate de linalyle (30-55 %) ; linalol (20-35%)
 β – ocimene , α - terpinol (0.3 à 1.0 %) , limonène (0.1 à 0.5 %) , cinéole (0.3à 1.5 %) , camphre (0.2 à 0.3 %) et sesquiterpènes (époxyde de caryophyllène) [MAXWICH].

3. Les flavonoides :

3.1.Définition :

Le nom flavonoide est dérivé du nom grec «FLAVUS» qui veut dire jaune.Les flavonoides latosensu sont des pigments quasiment universel des végétaux , presque toujours hydrosolubles , ils sont responsables de la coloration des fleurs , des fruits , légumes et parfois

des feuilles (JEAN,1993). Ces diverse substances se trouve rencontrent à la fois sous la forme libre ou sous la forme de glycosides .

3.2. Découverte :

Ce n'est qu'en 1937 que les flavonoides fut isolés de l'écorce de citron , par le biochimiste : Albert Szent gyorgie dont il a dénommé vitamine P ou vitamine de permeabilité Quelques années plus tard , les flavonoides fut isolés par Ilanvera , Bodona Vesky , Barbier et Gonnet , à partir ,d' autres végétaux(tomates , sarrasin , ginkgo , biloba) (BOUSENANE,2001) .

3.3. Origine et localisation :

On trouve les flavonoides dans les agrumes qui appartinneut à la classe des aurantiacées , mais également dans les rotacées (tomates , sarrasin ...) , les oléacées (cyprès frêne),les conifères . Ils sont présents dans tout les parties des végétaux supérieurs (racines , tiges, feuilles , fleurs , pollens , fruits chez le monde animal on trouve les flavouides comme exemple dans les propolis des abeilles .(ROUIBAH ,2003]

3.4. Structure et classif cation générale

3.4.1 Structure générale :

Les flavonoides sont caractérisés par une structure commune en $C_6-C_3-C_6$ dans laquelle deux cycles benzénique A et B sont réunis par une chaine de trois carbones (schéma 1) (SAMMAN et COOK.1996) .La variation du degré d' oxydation du noyau pyranique central détermine les différentes classes de flavonoides .

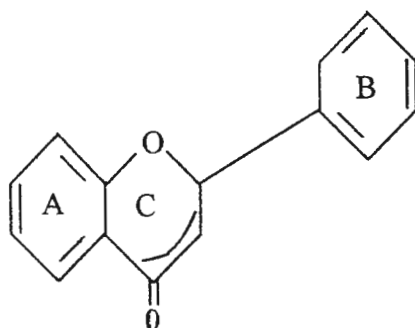


Schéma1 : Squelette de base des flavonoides

(Selon COOK et SAMMAN ,1996)

3.4.2. Classification :

les flavonoides sont des substances très répandues à l'état naturel .Structurellement , ils se répartissent en quinze familles de composé dont les plus importants sont les suivants selon (JEAN,1993)

2- Phénylbenzopyrilums : Anthocyanes ;

2- Phénylchromones : flavones , flavonols , et leurs dimères , flavanones et dihydroflavonols , isoflavones, isoflavones... ;

2- Phénylchromones : flavones , flavan-3-ols ; flavan-3,4- diols ;

Chalcones et dihydrochalcones (le cycle pyranique est ouvert) ;

2- Benzylidène caumaranones : Aurones [BOULKOUR,2004].

3.6. Propriétés des flavonoides :

La fonction principale des flavonoides est de contribuer à la couleur des plantes , et notamment à celle des fleurs .Or , c'est par la couleur de ces fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs , assurant par ce biais une étape fondamentale de la reproduction

Les flavonoïde présentent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétale de croissance . Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines , c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise pour lutter contre les infections . Certains flavonoides sont de bons antioxydants , capables de protéger contre les effets néfastes des entités radicalaires oxygénées . D'autres sont de bons inhibiteurs d'enzymes.

On a également signalé pour certains des propriétés antibiotiques, antivirales ou encore antiestrogènes .(BOULKOUR,2004)

3-7-Activité pharmacologique des flavonoides :

De nos jours , les activités pharmacologiques des flavonoides sont largement étudiées , ils jouent un rôle très important dans le domaine médical.

*** activité antioxydante :**

Les flavonoides ont une capacité antioxydant , cette faculté leur permet de capter les radicaux libres notamment l'anion superoxyde , ceci leur confère in vitro la capacité de diminuer

l'activité d'enzymes comme la cycloxygénase , les hydrolases , les bétagalactosidases et les oxydoréductases (HUSAIN , 1987 ; ROBAK et GRYGLEWSKI, 1988)

***sur les cellules tumorales :**

Les flavonoides réduisent l'apparition des tumeurs dans les études de comcérognése exprimentale chez l'animal , notamment pour les cancers de la peau , du colon , et du sein . Leurs impacts se situe à differents niveau du processus de cancérognése .Au niveau de la phase d initiation ils empêchent la dénaturation de l'ADN au niveau de la phase de promotion , en inhibant la croissance et la prolifération des cellules cancéreuses , et en phase de progression en inhibant la vaxularistion des tumeurs .(HERTOOG , 1993).

*** Au niveau vaxulaire :**

- a) par leur propriété « vitaminique P », ils diminuent la perméabilité des vaisseaux capillaires , renforçant leur résistance .(CHANVALLON,1994)
- b) sur les plaquettes étant donné le rôle des plaquettes dans le développement de l'athéroxlérose et dans l'inhibition de la thrombose.(SWIES,1984)
- c) les flavonoides luttent contre l'altération des fibresde collagène.
(BERRETZ et CAZENAVE)
- d) sur la rhéologie une diminution de l'agrégation érythrocytaire a été objectivée avec la troxérutine.(BLANCHEMAISON,2000)
- e) de nombreuses recherches ont nonté que les flavoniodes peuvent participer a la prevention cardiovasculaires.Ils inhibent l'oxydation des lipoproteines, qui sont des vesicules de transport dans le sang , et dont l'oxydation est l'une des premieres etapes du processus d atherogenése implique les maladies cardiovasculaires.(SWIES, 1984).

***Activité anti – inflammatoire :**

L'activité anticyclooxygénase entrainerait de ce fait une diminution de la libération des médiateurs de l'inflammation . L'inhibition de la lipoxygénase et de la libération de leucotriènes expliquerait l'action analgésique des flavonoides .(BLANCHEMAISON,2000)

*** Activité anti-diabétique :**

Les flavonoides peuvent améliorer la sécrétion de l'insuline et protéger les cellules pancréatique Les flavonoides peuvent être antiallergique ,hépatoprotecteurs, antispasmodiques,diurétiques antibacteriennes , et antiviraux. (BLANCHE MAISON ,2000)

Les antibiotiques

II- Les antibiotiques :

II-1-Généralités sur les antibiotiques :

Un antibiotique est une substance antimicrobienne d'origine biologique, c'est-à-dire **métabolite secondaire** produit par un micro-organisme (Champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres micro-organismes sans affecter l'hôte, leur intérêt économique provient de l'utilisation médicale pour lutter contre les maladies infectieuses. (VAN BAMBEKE, 1997) .(BOULAHBAL, 1993)

La pénicilline, premier antibiotique à usage chimique, est produite par *Penicillium notatum* et sa découverte fortuite résulte de l'observation par **Fleming** du pouvoir inhibiteur d'une colonie de ce champignon vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* lors d'une contamination accidentelle d'une plaque de pétrie par ce champignon. (VAN BAMBEKE, 1997)

II-2-Origine des antibiotiques :

Les antibiotiques sont soit d'origine naturelle à partir des champignons et des bactéries.

Exemple : La **Pénicilline** est produite par un champignon *Penicillium notatum*, soit obtenus par synthèse chimique tels les Sulfamides et le Chloram phénicol qui sont utilisés comme agent chimiothérapeutiques et antibactériens et sont communément assimilés aux antibiotiques. Les antibiotiques semi-synthétiques sont des antibiotiques naturels, chimiquement modifiés par l'ajout de groupement chimique spécifique, destinés à modifier leur structure de manière de diminuer leur sensibilité à l'inactivation par les micro-organismes résistants, tout en gardant leur activité. (BOUSSE BOUA, 2002)

-Parmi les antibiotiques d'origine naturelle (10.000), il y a **20%** proviennent de champignons *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Aspergillus*, **70%** provient d'actinomycètes microfilaments comme Streptomyces, **10%** provient des bactéries : *Bacillus* et *Pseudomonas*, la **Bacitracine** est un exemple. [VAN BAMBEKE, 1997]

Parmi les antibiotiques de synthèses : **Sulfamides**, **acide nalidixique**(1962) et les **fluoroquinolones**, **Pénèmes**.

II-3-Cibles bactériennes des antibiotiques :

La première phase d'action des antibiotiques et leur mise en contact des bactéries ciblées dont ils doivent perturber une voie métabolique vitale qui constitue leur site d'action, qui engendre l'inhibition de leur croissance ou provoque leur mort.

[BOUSSE BOUA ,2002]

La connaissance du mode d'action des agents antimicrobiens du type antibiotique ou Sulfamide se révèle extrêmement utile car elle ouvre la voie à la découverte d'autres molécules, on peut distinguer les cibles faisant partie d'une voie métabolique et celles participant à la structure de la bactérie. Le plus souvent l'antibiotique se comporte comme un analogue de substrat (B-Lactamine, Fosfomycine, Sulfamide...).

Certains antibiotiques peuvent agir au niveau des coenzymes, parfois par analogie stérique ou en inhibant leur synthèse. La sélectivité de leur pénétration peut expliquer la spécificité de leur action sur certains microorganismes. [LECLERE ,1999]

II-3-1-Action sur la synthèse de la paroi :

La paroi cellulaire bactérienne est composée d'un réseau macromoléculaire appelé **Péptidoglycane** qui est un hétéropolymère, formé de chaînes linéaires alternées de deux dérivés glucidiques : le N-Acétyleglucosamine et l'acide N-Acétylemuramique. [BOUSSE BOUA, 2002]

Les B-lactamines sont essentiellement les antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi, associés à un noyau Thiazolidine il forme l'acide B-Amino pénicillinique, structure de base des pénicillines. Relié à un noyau dihydrothiazine, il donne naissance à l'acide 7-Amino-céphalosporanique qui est à l'origine des céphalosporines. L'action la plus significative des B-Lactamines est l'inhibition des transpeptidases intervenant dans la synthèse de la paroi.

Les glycopeptides, qui se lient à un intermédiaire de synthèse.

D'autres antibiotiques de nature chimique : Cycloserine, Vancomycine, Bacitracine, qui inhibent spécifiquement la synthèse de Péptidoglycane. (LECLERE, 1999).

(BOUSSE BOUA, 2002)

II-3-2-Action sur la membrane cytoplasmique :

Les antibiotiques de nature polypeptidique comme les Polymyxines, la Gramicidine et les antibiotiques voisins agissent sur la membrane Cytoplasmique.

La Polymyxine B Provoque une rupture de la membrane plasmique en se fixant aux phospholipides de cette dernière.

(LECLERE, 1999).

II-3-3- Action sur la synthèse des protéines :

Nombreux antibiotiques : Tétracyclines, Macrolides, Chloramphénicol, fucidine, ont pour cible primaire les sous unités 30s ou 50s des ribosomes bactériens. Ces antibiotiques sont inactifs sur les ribosomes eucaryotes (80s). Leur action aboutit à l'altération à différent niveau de la synthèse des protéines : Fixation de l'Aminoacyl – ARNt. Liaison peptidique des acides aminés, lecture de l'ARNm.

Les tétracyclines se lient à la sous unité 30s et empêchent la liaison des ARNt au complexe ribosome- ARNm, et par conséquent l'inhibition de la synthèse des protéines. Les tétracyclines ont, en outre la propriété de s'accumuler dans les cellules bactériennes grâce à un système de transport actif ce qui accroît d'autant leur effet antibactérien. [BOUSSE BOUA, 2000]

III-3-4- Action sur la synthèse des acides nucléiques :

Les Rifamycines, Quimolones, Aminosides perturbent le métabolisme de synthèse des acides nucléiques, essentiellement en inhibant l'ADN polymérase. Mais ils agissent aussi sur d'autres enzymes impliquées dans la répliation de l'ADN dans sa transcription.

Les Rifamycines ont une action directe sur la transcription. Elles bloquent l'ARN-polymérase, ADN dépendante, au niveau de l'initiation de la synthèse de l'ARN.

II-3-5-Antibiotiques inhibiteurs de voie métaboliques : (Anti-métabolites)

Les premiers Anti-métabolites développés sont les sulfamides qui sont aussi les premiers antibiotiques utilisés comme agents chimiothérapeutiques. Ils ont une structure de base analogue à celles de l'acide Para-amino-Benzoïque (PABA) qui est le substrat précurseur de la synthèse de l'acide Folate qui est nécessaire à la synthèse des acides nucléiques des bactéries et de certains protozoaires parasites.



Les sulfamides constituent pour ces organismes un faux substrat qui entre en compétition avec le PABA et inhibe la synthèse de l'acide folique qu'ils sont dans l'obligation synthétiser. [VAN BAMBEKE, 1997](BOULAHBAL, 1993)

II-4- Paramètres pharmacodynamiques des antibiotiques :

II-4-1-Antibiotiques bactériostatiques ou bactéricides :

Il existe deux catégories d'antibiotiques :

Les antibiotiques à effet bactériostatique qui inhibent la croissance bactérienne en ralentissant puis arrêtant la multiplication.

Les antibiotiques bactéricides qui lysent les bactéries.

La distinction entre les deux types d'activité peut se faire en comparant in Vitro la CMI (Concentration Minimale inhibitrice) et la CMB (Concentration Minimale bactéricide). Un antibiotique peut être considéré comme bactéricide lorsque sa CMB est sensiblement égale à sa CMI. Un antibiotique dans la CMB est très supérieur à la CMI de telle sorte que sa concentration au site d'infection in vivo ne permet pas d'atteindre la valeur de la CMB sera considérée comme bactériostatique.

(VAN BAMBEKE, 1997)

II-5-Résistance des bactéries aux antibiotiques :

La résistance est un phénomène qui indique que l'antibiotique n'a pas d'effet sur le micro-organisme ceci se traduit par le fait que le micro-organisme pousse même en présence de l'antibiotique. L'expression de la résistance vis-à-vis de celui-ci peut être modifiée génétiquement au niveau plasmide. [LECLERCH, 1995]

II-5-1-Origine de la résistance :

La résistance aux antibiotiques est naturelle chez certaines bactéries elle peut aussi être acquise par des souches dérivées des bactéries sensibles, ayant subi une modification génétique. [BOUSSE BOUA ,2002]

Les gènes de résistance aux antibiotiques sont présents à la fois sur le chromosome bactérien et sur des plasmides.

[PRESCOTT, 2003]

- a) Résistance par mutation ou chromosomique
- b) Résistance par transfert ou extra –chromosomique

II-5-2-Mécanisme de résistance aux antibiotiques :

Les bactéries deviennent résistantes aux antibiotiques de différentes manières :

A - Inhibition enzymatique de l'antibiotique.

B - Altération de la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie

C - Altération de la cible bactérienne :

- Altération de la cible Ribosomale.
- Altération des précurseurs de la paroi.
- Altération d'enzymes cible.

II- 6-Classification :

Les antibiotiques peuvent être classés selon leur structure chimique, le site d'action, l'origine, le mode d'administration, la répartition dans l'organisme...

L'usage dans le milieu médical a fait ressortir huit familles d'antibiotique fondé des analogies structurales. [EBERLIN, 1994]

II- 6-1-Les B-Lactamines :

Les B-Lactamines sont les premiers antibiotiques naturels ont avoir été découvert, elles constituent par les deux familles des pénicillines et des Céphalosporines. Aussi les B-Lactamines sont des antibiotiques les moins toxiques pour l'homme, elles possèdent en commun un cycle B-Lactamine qui est leur site actif.

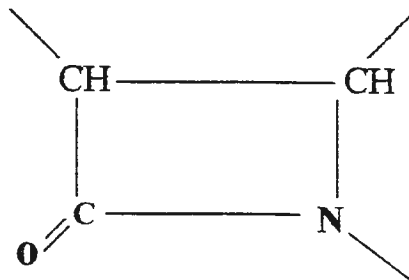
➤ Structure chimique :

Les B-Lactamine comportent un noyau **B-Lactame** associé un noyau **thiozolidine** (Pénicillines) ou un noyau de **dihydrothiazine** (Céphalosporines). [TIMOUR, 2000]

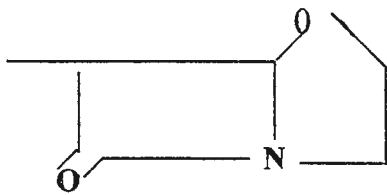
Sur le plan chimique, on peut distinguer schématiquement différents cycles

B-Lactame :

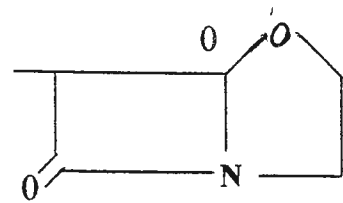
- Pename (cycle à cinq (05) pièces soufrées).
- Clavame (cycle à cinq (05) pièces oxygénées).
- Carbapénème (cycle à cinq (05) pièces insaturées).
- Oxacéphème (cycle à six (06) pièces insaturées oxygénées).
- Cycle Monolactame.



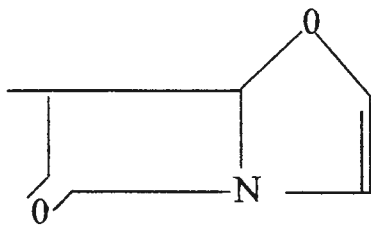
****Le noyau B-lactame****



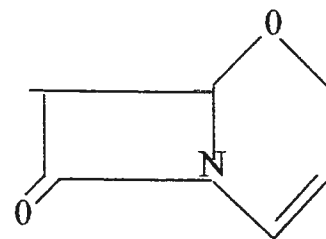
Le cycle Pename



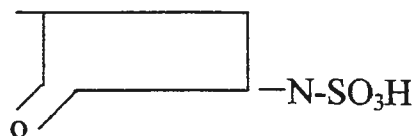
Le cycle clavame



Le cycle carbapénème



Cycle oxacéphème



Le Cycle monobactame

Figure 01: Structure chimique de composés à cycle B- Lactame. [DUVAL, 1990]

-Mode d'action de B-Lactamine :

Parmi les enzymes intervenant dans la synthèse du peptidoglycane plusieurs font partie du groupe des, D-peptidase, c'est à dire qu'elles coupent des liaisons peptidiques situées entre deux centres asymétriques. On compte de D-transpeptidases et des D-carboxypeptidases, les D-peptidases sont sensibles au B-Lactamines. [EBERLIN, 1994]

Les B-Lactamines inhibent la dernière étape de la synthèse de peptidoglycane, constituant principale de la paroi bactérienne notamment la transpeptidation. Les cibles des B-Lactamines sont des protéines insérées sur la face externe de la membrane cytoplasmique. (DUVAL, 1990)

1-Les pénicillines :

Découverte par Fleming en 1928, la pénicilline G est produite de la fermentation de *Penicillium notatum*.

➤ Structure chimique de pénicilline :

Comporte deux cycle fusionnés (Thiozolidine et B-Lactame).

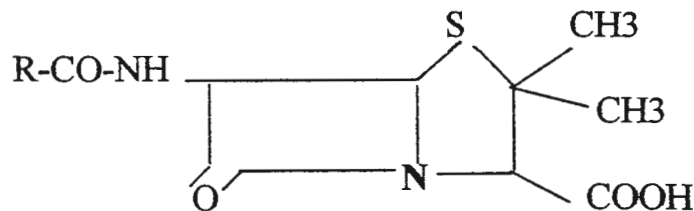


Figure 2 : Formule générale des pénicillines. [ADAMY ,1992]

2- Les Céphalosporines : Antibiotique naturel produit par un champignon *Cephalosporium acremonium*. [BOULAHBAL, 1993]

➤ Structure chimique :

Les Céphalosporines présentent une structure bicyclique, elles comportent d'élément structural : Azétidin-2-one.

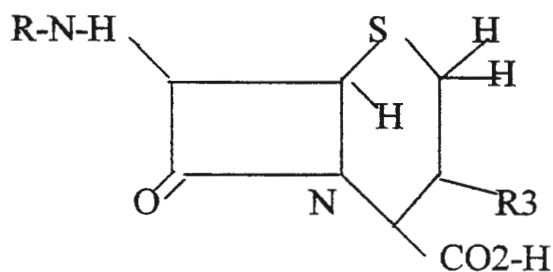


Figure 3 : Structure générale de Céphalosporine. [ADAM Y, 1992]

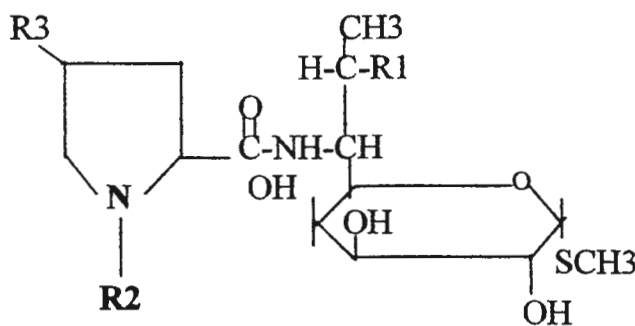
II-6-2- Les Lincosamides :

Ce groupe d'antibiotiques comprend la Lincomycine qui a été isolé en 1962 à partir de la fermentation de *Streptomyces Lincolnensis*. A partir de la lincomycine, de nombreux dérivés ont été préparés par hémisynthèse : la Clindamycine, la pirlimycine.

➤ Structure chimique :

Les Lincosamides sont constitués de trois parties : un acide aminé, un sucre et ces deux entités sont reliées entre elles par une liaison amide. Le résidu acide aminé est une L-proline substituée par une chaîne 4-alkyle (trans-1- méthyl4-n-propyl-L-proline). Le sucre est le Lincosamine.

Figure 4 : Forme générale des Lincosamides.



Antibiotiques	R1	R2	R3
Lincomycine	-H	-CH3	-nC3H7
Clindamycine	-CL	-CH3	-nC3H7
mirincamycine	-CL	-H	-n-C5H11

Spectre d'action :

Leur spectre antibactérien recouvre les cocci à **Gram (+)**, les bactéries à développement anaérobie et certaines bactéries dites atypiques. [ACAR, 1999]

II-6-3- Les phénicoles :

Les phénicoles sont des antibiotiques potentiellement utiles en raison de leur large spectre et leur bonne pénétration dans le système nerveux centrale mais dans l'usage et actuellement limité par leur toxicité médullaire. [VAN BAMBEKE, 1997]

➤ La structure chimique :

Les Phénicoles sont dérivés de l'acide dichloroacétique, porteurs aussi d'un phényle substitué, le groupement Dichloroacétamide est certainement important pour l'activité antibiotique. Alors actuelle, deux molécules sont en usage chimique : le Chloramphénicol et Thiamphénicol. [EBERLIN, 1994]

Exemple :

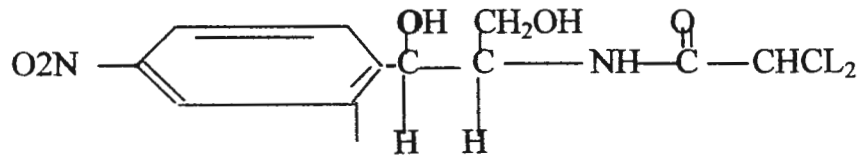


Figure 5 : ****Le Chloramphénicol**** [PRESCOTT,2003]

Spectre d'action :

Agissent sur les coques Gram (+) ou Gram (-) , Les Bacilles Gram(+) et certains bacilles à Gram(-) dont les Entérobactéries.

[VAN BAMBEKE,1997].

II-6-4-Les Sulfamides :

Ils sont caractérisés par leur capacité d'interférer avec la synthèse du THF(tetrahydro-folate) ,par compétition avec l'acide para-aminobenzoïque inhibant la

synthèse des dihydro-folates par inhibition d'une enzyme constitutive : la Dihydropteroate synthétase. [ACAR, 1999]

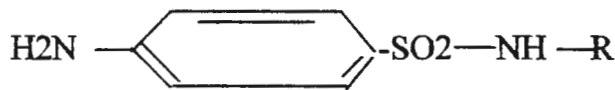


Figure 6: Forme generale des sulfamides.

➤ **Structure chimique:**

Les Sulfamides sont des dérivés de l'acide Para-aminobenzène Sulfonique, dans les quels sont indispensables à l'activité antibactérienne, la présence d'une fonction Amine libre et d'un soufre substituant directement le Benzène. Les Sulfamides se distinguent par leur demi-vie plasmatique.

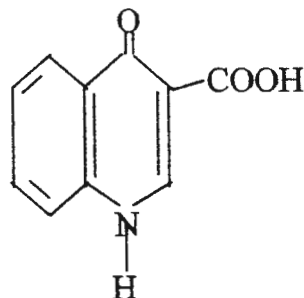
Spectre d'action :

Les sulfamides sont actifs sur la plupart des coques à Gram (+) ou (-), ils sont actifs sur *Listeria*. La sensibilité des bacilles à Gram (-) est variable, mais l'adjonction d'une diaminopyridine augmente la proportion d'Entérobactéries sensibles.

II-6-5-Les quinolones :

Ce sont des agents antibactériens de synthèse, utilisés autrefois surtout dans le cas des infections urinaires. Toutes ces molécules possèdent un cycle pyridine dont l'azote peut être diversement substitué. [EBERLIN ,1994]

Figure 7: Formule du quinolones. [ADAM Y ,1992]



➤ **Structure chimique :**

Elle comprend des acides nalidixique, oxolinique, pipemidique... . Cette famille connaît d'importants développements, qui ont abouti à la synthèse de nouveaux composés dont la propriété élargit les indications des quinolones.

Spectre d'action :

Le spectre des produits les anciens est limité aux bactéries à Gram (-) à l'exception du bacille pyocyanique, les dérivés récents ont un spectre élargi du bacille pyocyanique et aux bactéries à Gram (+), notamment les Staphylocoques [DUVAL, 1990]

II-6-6 Macrolides :

Le premier Macrolide fut isolé en 1950. Les Macrolides extraits de différents Streptomyces, dont le chef de file est l'érythromycine, présentent les caractères communs suivants :

- Structure chimique macrocyclolactonique.
- Activité sur des germes résistants à la pénicilline et aux tétracyclines en particulier les Staphylocoques.
- Résistance croisée entre eux.
- Inhibition de la synthèse protéique par fixation sur les ribosomes.
- Faible toxicité et bonne tolérance chez l'homme. [LECHAT, 1982]

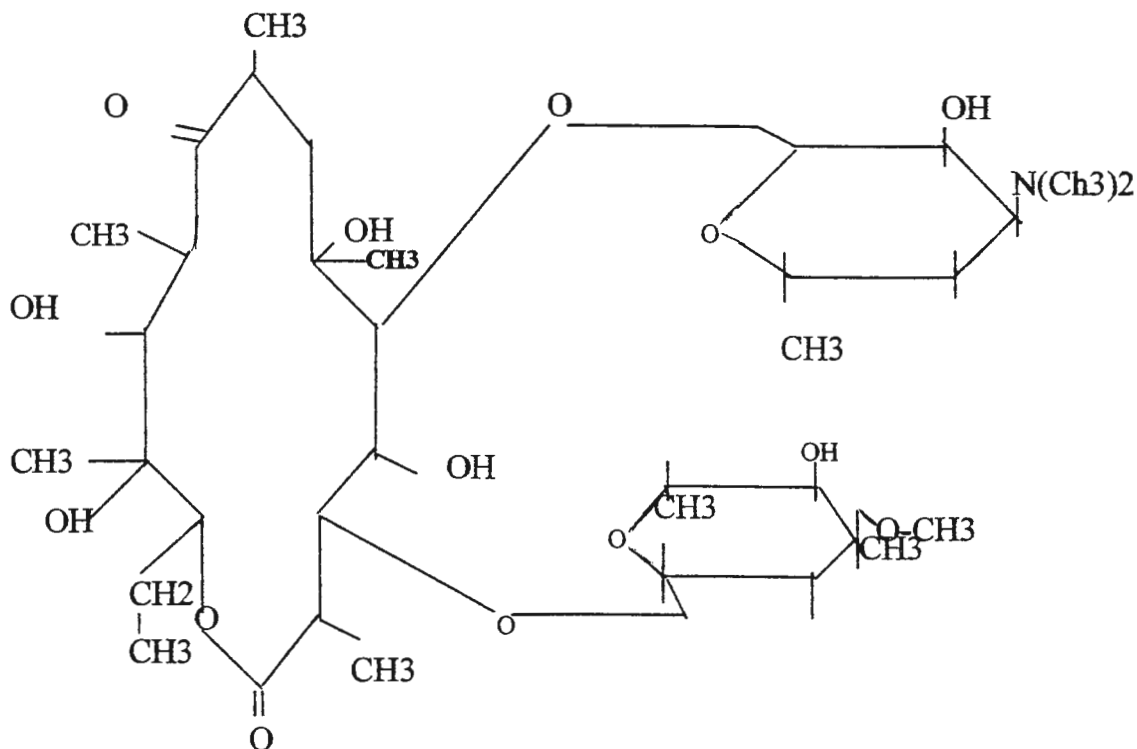
➤ **Structure chimique :**

Les Macrolides sont des hétérosides lipophiles dont la génine est caractérisé par Macrocycle lactonique oxygéné (d'où le nom).

Les sucres sont des oses neutres particuliers et des aminosucres, on les classe généralement d'après la taille du macrocycle lactonique. [ADAM Y, 1992]

Les principaux produits : Erythromycine, Oléandomycin

Figure 8 :Exemple Erythromycine A



Le spectre d'action :

Cocci Gram (+), Cocci Gram (-). [BOULAHBAL, 1993]

L'érythromycine est habituellement bactériostatique à spectre relativement large efficace contre les bactéries Gram (+), les Mycoplasmes et quelques organismes

Gram (-). On utilise chez les patients allergiques aux pénicillines et dans les traitements de la coqueluche, de la diphtérie, diarrhée par *Campylobacter* et de Pneumonie.

II-6-7- Les Tétracyclines :

Les tétracyclines ou plus simplement les cyclines constituent un groupe d'antibiotiques très homogènes, à large spectre, possédant en commun un noyau naphtacène portant diverses substitutions oxygénées et azotées. Ils se distinguent entre elles plus par leurs propriétés pharmacocinétique que leur activité antimicrobienne. Elles ont un effet uniquement bactériostatique. [EBERLIN, 1994]

➤ **Structure chimique :**

Le noyau est celui du naphtacène, qui comporte quatre cycles d'où le nom de cette classe. Toutes les tétracyclines portent un reste carboxamide. Et diffèrent entre elles par la nature des radicaux R, R1 et R2. [LECHAT, 1982].

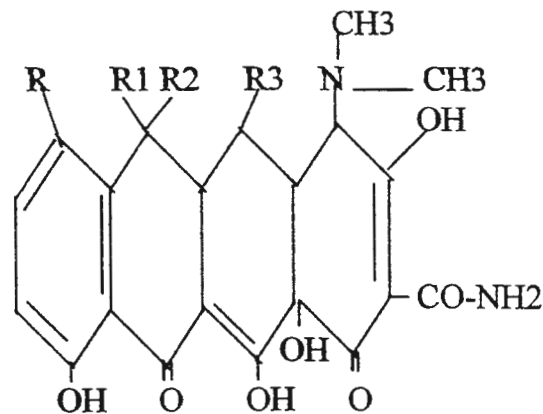


Figure 9: Structure générale de tétracyclines

Antibiotiques	R	R1	R2	R3
Tétracycline	H	CH3	OH	H
Chlortétracycline	Cl	CH3	OH	H
Oxytétracycline	H	CH3	OH	OH
Doxycycline	H	CH3	H	OH

Spectre d'activité :

Le spectre d'action des tétracyclines est très large et étend aux Cocci Gram (+) et Gram (-), aérobies et anaérobies et aux bacilles Gram (+) et Gram (-).

[TIMOUR, 2000] et des microorganismes plus particuliers tels les Rickettsies, les mycoplasmes, les spirochètes, des levures (*candida*) et même des virus et protozoaires. [ADAM Y, 1992].

II-6-8-Les aminosides ou aminoglycosides :

Ils regroupent les antibiotiques dont la structure chimique est à base de sucres aminés. Le premier antibiotique a été isolé en 1944 : il s'agit de la Streptomycine qui fut produite à partir de *Streptomyces griseus*.

Ils possèdent quatre caractères communs :

Une quasi-absence par le tractus digestif.

Un mécanisme d'action biochimique identique.

Un spectre large.

Une toxicité élective pour la 8^{ème} paire de nerfs crâniens lorsqu'ils pénètrent dans la circulation. [LECHAT, 1982]

➤ **Structure chimique :**

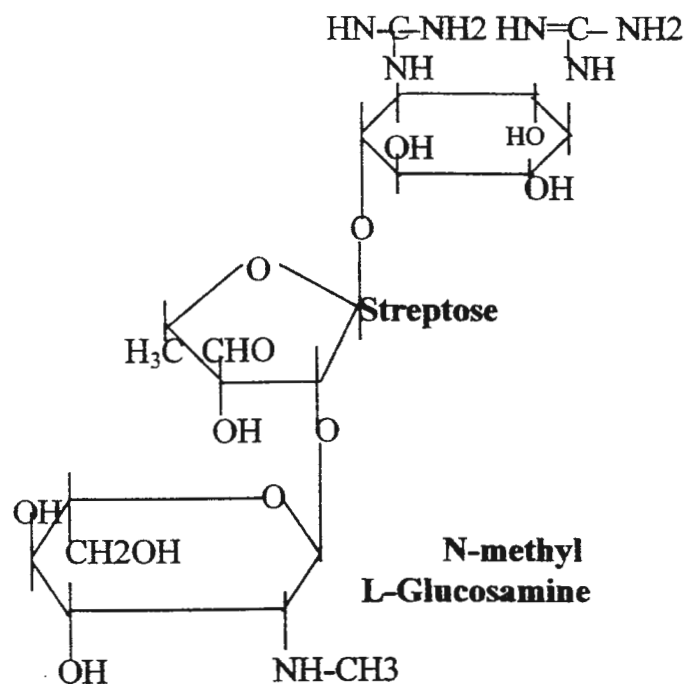
La structure des différents aminoglycosides varie considérablement, ils contiennent un noyau cyclohexane et des sucres aminés [PRESCOTT, 2003].

On peut opposer : la Streptomycine et la Dihydrostreptomycine dont la molécule ne comporte pas de désoxystreptamine, les autres produits qui comporte ce cycle.

➤ **Spectre d'action :**

Ce sont des antibiotiques à spectre large, habituellement bactéricides : coques gram (+) et (-), bacilles à gram (+) : *listeria*, corynébactéries, bacilles à gram (-) : Entérobactéries, Brucelles, hémophiles, parfois le pyocyanique.

Figure 10 : Exemple d'un aminoside (Streptomycines) (DUVAL, 1990)



II-7-L'utilisation thérapeutiques des antibiotiques :

Les antibiotiques sont devenus des agents thérapeutiques courants, utilisés à la fois dans des pathologies bénignes (Angine par exemple) et dans des pathologies. Où la vie de patient est en danger (endocardite).

Il est bien évident que l'utilisation de l'antibiotique ne s'effectue pas de la même manière selon la gravité de l'état de patient.

II-7-1-Bases du choix d'un antibiotique :

II-7-1-1 -L'agent pathogène :

La responsabilité de l'agent pathogène est parfois évidente, c'est le cas lorsque le produit pathogène est naturellement stérile (exp: l'Urine) et que l'examen microbiologique a clairement identifié l'agent causal lors d'une infection. Plus souvent, l'agent infectieux est juste soupçonné parce que la flore commensale est riche (exp: les selles) ou parce que les isolements sont difficiles à réaliser. Le choix de l'antibiotique sera alors délicat.

II-7-1-2-Le site infectieux :

Il faut que l'antibiotique soit choisi de façon à ce qu'on en trouve une concentration suffisante dans le site d'infection. Il faudra choisir une voie d'administration adéquate et un antibiotique à bonne diffusion tissulaire.

II-7-1-3-Etat physiologique du patient :

Il faut tenir compte des tolérances propres au patient. Mais il faut aussi penser aux patients, aux défenses immunitaires réduites (exp. Les granulopéniques), il est indispensable d'utiliser pour eux des antibiotiques à action bactéricide rapide, lors qu'une action bactériostatique est plus souvent suffisante pour un patient aux défenses immunitaires correctes. L'antibiotique empêche le développement du foyer infectieux et, de ce fait, les défenses immunitaires ont le temps de se mettre en jeu pour éliminer l'agent infectieux.

II-7-1-4-L'accès aux antibiotiques :

Tous les antibiotiques n'ont pas la même accessibilité, soit du fait du prix du médicament, soit parce qu'il faut éviter l'émergence des résistances. Il est donc indispensable d'utiliser avec discernement les antibiotiques. [EBERLIN, 1994].

II-7-2-Traitement des infections :

Le tableau 1 ci dessous montre l'organisme en cause en déterminant à chaque fois l'antibiotique utilisé comme traitement de choix.



	Organisme	Traitement de choix
Cocci et bacilles gram positifs	Cocci gram positif Staphylocoque doré Streptocoques Cocci gram négatif <i>Neisseria</i> Bacilles gram positif <i>B. anthracis</i> <i>Clostridia</i> <i>C. diphtérie</i> <i>Listeria</i>	Pénicilline G, Méthicilline, Nafcilline, Oxacilline, Céphalosporine(1ère génération) Pénicilline G Pénicilline G, streptomycine ou Céphalosporine(3ième génération) Pénicilline G Pénicilline G Erythromycine Pénicilline G ou Ampicilline
	Gram négatif Bacilles Bacilles gram négatif entérique Enterobactériaceae <i>B. fragilis</i> <i>Campylobacter. Fétus</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> Autres bacilles gram négatifs <i>Bordetella pertussis</i> <i>Brucella</i> <i>Haemophilus influenzae</i>	Variable, particulièrement Nouvelles céphalosporines (2ème Et 3ième génération) ou Aminoglycosides. Chloramphénicol, clindamycine Métronidazole, nouvelle Pénicilline céfoxitine, moxalactam. Erythromycine Ampicilline, Chloramphénicol TMP – SMX TMP – SMX Erythromycine Tétracycline +/- streptomycine Variable
	<i>Pasteurella-mutocida</i> <i>Pseudomonas.aeroginosa</i> Autres espèces Actinomycètes Chlamydiae Mycoplasma Rickettsiae Spirochetes	Pénicilline G Nouvelle pénicilline + aminoglycoside pénicilline G Tétracycline ou Erythromycine Tétracycline ou Erythromycine Tétracycline ou Chloramphénicol Pénicilline G ou tétracycline

Tableau 1 : Traitement des infections causées par Cocci et bacilles gram (+) et les infections causées par des bacilles gram (-). [MOLLARET, 1984].

Les bactéries

III-Généralités sur les bactéries :

Définition :

Les bactéries sont des organismes procaryotes, unicellulaires, relativement simples, dont le matériel génétique représenté par un seul chromosome circulaire, n'est pas contenu dans une enveloppe nucléaire (nucléotide).

Les bactéries Gram \oplus et Gram θ

En microbiologie médicale, la lutte contre les microbes est constante. Etant donné que la paroi cellulaire est essentielle à la bactérie, toute action qui perturbe l'intégrité de sa structure va provoquer sa destruction. La coloration de Gram permet de distinguer deux types de bactéries : bactéries à Gram \oplus et bactéries à Gram θ .

La paroi des bactéries à Gram \oplus est généralement épaisse, elle est composée de multiples couches de peptidoglycane, qui forme une structure homogène et rigide par comparaison à la Gram θ [TORTORA,2003]. De plus ces bactéries contiennent des acides teichoïques [SINGLETON,1999].

La paroi cellulaire des bactéries Gram θ est plus mince. Le peptidoglycane se présente en couche mince (20Å d'épaisseur) (environ 20% de la paroi). La membrane externe contient des protéines et lipides unis à des protéines, qui sont liées au peptidoglycane sous-jacent, de telle sorte que les deux structures forment un tout. [BOULAHBAL,1993] (TORTORA,2003).

On croit généralement que la couche interne la plus proche de la membrane cytoplasmique consiste en un « gel périplasmique » de peptidoglycane. Cette conception suggère que le peptidoglycane comporte plusieurs couches. L'espace périplasmique contient une concentration élevée d'enzymes de dégradation et de transporteurs protéiques. En plus de lipoprotéines, la membrane externe de la bactérie Gram θ est composée de lipopolysaccharides et de phospholipides. [TORTORA,2003] (SEBALD,1997).

III-1- Bacilles à Gram négatifs :

II-1-1 Famille de Entérobactériaceae :

Appartient à la classe des proteobactéria . La famille des Entérobactériaceae est plus particulièrement connue en raison de son importance médicale et économique. Elle est constituée de genres bactériens, qui sont rassemblés en raison de leur caractère bactériologiques communs :

Ce sont des bacilles à Gram négatif, dont les dimensions varient de 1 à 6 μm de long et 0,3 à 1 μm de large, asporulées.

- Mobiles par une ciliature péritriche ou immobiles.
- Se développent en aéro- anaérobiose et sur gélose nutritive ordinaire.
- Fermentent le glucose avec ou sans production du gaz.
- Ne possèdent pas d'oxydase.
- Réduisent les nitrates en nitrites par la nitrate réductase .Selon Brenner(1992) comprendrait actuellement 29 genres , parmi les genres actuellement définis sont : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterbacter*, *Klebsiella*, *Prtoeus*, *Salmonella*, *Shigella*....[LOUP AVRIL,1992] (LECLERE,1994).

Habitat et pouvoir pathogène :

Certains sont trouvés dans l'environnement, d'autres chez les végétaux ou les animaux .Parmi les espèces qui peuvent être isolées chez l'homme, certains sont constamment pathogènes . D'autres espèces se comportent comme des bactéries pathogènes opportunistes, responsables d'infections chez les malades fragilisés.

Parmi les bactéries de cette famille, on peut citer :

a- Genre *Escherichia* :

Espèce :*E. Coli* :

Le genre *Escherichia* comprend 5 espèces :*E.Coli*, *E. hermanü*, *E .vulneris*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. coli* est de loin la plus importante (LECLERE,1994) c'est l'espèce bactérienne qui a été étudiée par les fundamentalistes pour les travaux de physiologie et de génétique .Isolée pour la première fois par Escherich en 1885.C'est une coliforme thermotolérant (ou coliforme fécale) produisant de l'indole à 44°C et parfois définit comme un bacille Gram θ , qui possède une B- galactosidase (ONPG⁺), RM \oplus et

VP θ citrate θ (JOFFIN, 1999)

Ce sont des cellules isolées ou par paires, habituellement mobile (flagelles péritriches) font notamment partie de la microflore normale de l'intestin de l'homme et d'autres animaux (SINGLETON, 1999)

Habitat :

E. coli est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. La présence de *E. coli* dans l'eau est le témoin d'une contamination fécale récente et la rend impropre à la consommation présente à raison de 10^7 à 10^9 bactérie par gramme de selles. (LOUP AVRIL, 1992).

❖ Pouvoir pathogène :

A-Pouvoir pathogène pour l'homme :

1-Infections intestinales :

Certaines souches produisent des toxines responsables de troubles gastro-intestinaux que l'on regroupe sous l'appellation gastro-entérites à *E. coli*. La maladie se contracte par transmission oro-fécale, soit par ingestion d'eau et d'aliments contaminés, soit par contact avec des objets contaminés (TORTORA, 2003).

On reconnaît aujourd'hui 4 biotypes d' *E. coli* pathogène et responsable de diarrhées.

a/ Les souches entéropathogènes ou (entéro-pathogenic *E. coli*) (E.P.E.C) :

Ne sont pas invasives, responsables de diarrhées infantiles graves ou toxicoses surviennent par épidémies dans des crèches ou des maternités. Ces souches encore appelées *E. coli* G.E.I (des gastro-entérites infantiles). La dose infectieuse est de 10^8 à 10^{10} bactéries par ingestion (LOUP AVRIL, 1992).

b- Les souches entérotoxigènes ou (E.T.E.C) Enter-toxigenic *E. coli* :

Responsables de diarrhées très liquides s'observent principalement chez les voyageurs (Turista). Elles sont souvent épidémiques chez les enfants des pays développés.

c- Les souches entéro-invasives ou (Entero-Invasive *E. coli*) (E.I.E.C) :

Elles sont isolées de syndromes dysentériques tant chez l'adulte, que chez l'enfant. La présence de leucocytes dans les selles est le témoignage du processus invasif. L'infection entraîne de la fièvre et parfois une dysenterie semblable à celle causée par *shigella*, soit des

diarrhées mucoides et parfois sanguinolentes .La dose infectieuse est habituellement de 10^9 bactéries par ingestion.(TORTORA,2003)

d- Les souches entéro- hémorragiques ou Entéro- Hemorrhagic-Colitis E.coli(EHEC) :

Responsables d'épidémies de diarrhée aqueuse hémorragique .Elles sont aussi responsables du syndrome hémolytique- urémique L'agent pathogène c'est *E.coli* 0157 :H₇ qui est associé à la viande de bœuf hachée insuffisamment cuite et à la maladie communément appelée maladie hamburger .La dose infectieuse est évaluée entre 10 et 10^3 bactéries/ ingestion.

2-Infection extra- intestinale :

a/ Infections urinaires : Les souches provenant de la flore fécale contaminent les urines par voie ascendante . C'est la classique « colibacilles ».

b/ Méningites néo-natales : Dues à l'antigène polysaccharidiqueK₁, dont la composition est proche de l'antigène capsulaire de *N.meningitidis* de type B.

c/ Suppurations diverses : Les *E.coli* de la flore fécale peuvent être en cause dans les péritonites , des cholécystites, des salpingites et suppurations post-opératoires .

B/ Pouvoir pathogène pour l'animal : Certains souches d'*E.coli* provoquent des diarrhées chez les veaux. Les souches sont productrices de toxines ou possédant des propriétés invasives.(LOUP AVRIL,1992).

b- Genre Salmonella :

Les *salmonella* sont des entérobactéries, bâtonnets à Gram θ (BUGNICOURT, 1995) dégradent de nombreux glucides, habituellement mobiles .Dont les caractères essentiels sont de ne pas fermenter le lactose, de ne pas produire d'uréase. Presque toutes les espèces du genre *Salmonella* sont potentiellement pathogènes .La nomenclature du genre est inhabituelle, il est formé d'une seule espèce, soit *Salmonella enterica* divisée en plus de 2300 sérovars (TORTORA,2003) (SINGLETON,1999).

Habitat :

On trouve fréquemment ces bactéries dans le tractus intestinal de nombreux animaux à sang chaud ou froid (grenouille, tortue)(AIT ABDELOUAHAB,2001), de volaille et du bétail .La très grande majorité des Salmonelles présentés dans l'environnement ou dans les aliments destinés à l'homme, proviennent d'une contamination fécale .

S.Typh ,*S.paratyphi* A.B/C sont considérés comme étroitement adaptés à l'homme.(SUTRA,1998).

Pouvoir pathogène :

Les Salmonelloses peuvent revêtir trois aspects :

❖ **Les formes septicémiques** : ce sont les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes ,dues à *S.typhi* , *S.paratyphi A* , *S.paratyphi B* et rarement *S.paratyphi C*.

Chez le nouveau né ou le jeune enfant, *S.panama* ou *S.vien* peuvent être responsables des septicémies.

❖ **Les Salmonelloses purement digestives** : Les toxi-infections alimentaires à *Salmonella* se manifestent par des diarrhées, de la fièvre et vomissement (gastro-entérites).

❖ **Les formes extra –digestives** : infections urinaires, cholécystites, méningites, ostéomyélites, spondylodiscites, infections pulmonaires. Ces formes surviennent en particulier chez les malades immunodéprimés.

C-Genre Proteus :

Proteus est constitué de bacilles à Gram négatif,très polymorphes, appartenant à la famille des Entérobactériaceae. Il est défini par la présence des enzymes spécifiques : uréase ,TDA et phénylalanine désaminase . Il s'agit de bactéries extrêmement mobiles, qui envahissent rapidement les milieux gélosés .(LOUP AVRIL,1991)(GUIRAUD,1998)

Habitat : Les *proteus* sont des bactéries saprophytes très répandues dans le sol et dans les eaux d'égout ,ce sont des hôtes habituels du tube digestif de l'homme et des animaux .

On peut les trouver aussi dans les substances végétales au animale en décomposition à température modérée.[AIT ABDELOUAHAB, 2001](LOUP AVRIL, 1992)

Pouvoir pathogène :

Les *proteus* sont avant tout responsables d'infections urinaires souvent récidivantes ce sont des genres de l'hospitalisme, responsables de surinfections divers .Certains souches possèdent des toxines (*P.mirabilis* : un hémolysine et une neurotoxine ; *P morganü*, une hémolysine) et sont responsables de troubles gastro-intestinaux (diarrhées, vomissement, crampes abdominales, ...). Ces cas (rares) sont dus à *P. vulgaris*, *P.mirabilis*. *P.morgnū*, *P.*

rettgeri à partir de produits animaux ayant une contamination fécale.(LOUP AVRIL,1991)(BOUSSONNET)

Des méningites à proteus ont été aussi décrites chez le nourrisson.

d-Genre Enterobacter :

Les *Enterobacter* sont les bacilles à Gram négatif, appartenant à la famille de Entérobactériaceae. Les espèces du genre *Enterbacter* ,sont généralement mobiles , fermentent ou non le lactose, VP⊕

L'espèce la plus souvent isolée de produits pathologiques est *E. cloacae* (LOUP AVRIL, 1991)

Habitat :

Sont des commensaux de 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, et très fréquents dans les produits alimentaires. (GUIRAUD, 1998)

Pouvoir pathogène :

Les *enterobacter* provoquent habituellement des infections urinaires, septicémies, méningites et suppurations divers .Ce sont des pathogènes opportunistes et des bactéries de l'hospitalisme.

E-Genre Klebsiella :

Les *klesbiella* sont des gros bacilles à Gram négatif , immobiles , entourés d'une capsule , qui appartenant à la famille des Entérobactériaceae, fermentent de nombreuses Glucides avec production de gaz , mais elles ne sont pas protéolytiques .On distingue quatre espèces : *K.pneumoniae*, *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis* et *K. oxtoca* . Qui ont un pouvoir pathogène pour l'homme. (LOUP AVRIL, 1991)

Habitat :

Les *Klebsiella* sont très répandues dans la nature. On les trouve dans l'eau, le sol, la poussière. Ce sont des commensales de tube digestif de l'homme et des animaux.

Le portage digestif de *Klebsiella* est plus important chez les malades hospitaliers. *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont les plus souvent rencontrées, elles sont présentées dans la flore fécale de l'homme et sont commensales de la peau, de muqueuses et des voies respiratoires (LOUP AVRIL, 1992).

Pouvoir pathogène :

Les *Klebsiella* sont fréquemment responsables d'infections opportunistes chez des malades hospitaliers :

- Infections broncho-pulmonaires en réanimation.
- Infections urinaires et infections méningées post-traumatiques ou post-chirurgicales.
- Infections généralisées (septicémie ou bactériémies lors d'un cathétérisme), qui sont fréquemment responsables d'un choc endotoxinique (LOUP AVRIL, 1991).

F-Genre Shigella :

Les *Shigella* sont des Entérobactéries lactose θ , toujours pathogènes .Elles sont caractérisées par leur faible activité métabolique et par leur parenté génétique avec *E.coli* non mobiles , fermentent les sucres habituellement sans formation de gaz RM⁺, VP⁰, Citrate⁰, H₂S⁰. Il existe quatre espèces : *S.dysenteriae*, *S.flexneri*, *S.boydii*, *S.sonnei* (GUIRAUD,1998).[SINGLETQN,1999]

Habitat :

shigella est une espèce qui existe dans le tube digestif de l'homme et des animaux .Elles sont surtout transmises par l'eau et par les aliments crus à pH neutre (salades, légumes,...) (AIT ABDELOUAHAB,2001)

Pouvoir pathogène :

Les *shigella* sont toujours pathogènes , dont le principal réservoir est l'homme .la forme la plus grave de *Shigella* est la dysenterie bacillaire, due à *Shigella dysenteriae*. Cette souche a des propriétés invasives et libère une entérotoxine protéique cytotoxique appelée toxine « Shiga » qui est active sur l'épithélium intestinal, ce qui provoque une diarrhée sanguinolente avec des troubles associés (douleurs, céphalées) .*S. dysenteriae* possède aussi une endotoxine neurotoxique qui est libérée lors de la lyse bactérienne .

Les autres Shigellose sont plus fréquentes ,elles se manifestent comme des gastro-entérites entéro-invasif .

Les moins rares sont les infections urinaires, les formes septicémiques, les artérites et les méningites .(GUIRAUD,1998)

III-1-2 Famille des Pseudomonadaceae :

- ***Pseudomonas* :**

Ce sont des bâtonnets droits ou incurvés, Gram négatif, (0,5-1*1,5-5 μm). La plupart des espèces ont un ou plusieurs flagelles par cellule, habituellement polaires et non gainés, (SINGLETON, 1999), aérobies strictes, leur métabolisme est respiratoire ; Elles se développent entre 4°C et 43°C chimioorganotrophes (LECLERE, 1994). Elles sont non sporulés et donnent des colorations bleu ou jaune verdâtre lors d'une culture sur gélose (GOFFIN, 1999) . Elles ne fixent pas l'azote, leur croissance est possible sur de nombreux composés organiques comme seuls sources de carbone et d'énergie ,catalase \oplus , oxydase \oplus généralement (BOURGEOIS, 1996).

Elles ont une pigmentation variable : diffusible, fluorescente aux UV pyocyanine et fluorescéine possèdent protéase et lipase (AIT ABDELOUAHAB, 2001).

Elles contaminent fréquemment les produits alimentaires qu'elles peuvent dégrader de façon importante .Les espèces les plus fréquents dans les aliments sont : *P. fluorescens*, *P. putida* , *P. fragi* ...

Ces microorganismes ne sont pas en général pathogènes pour l'homme et les animaux. *Pseudomonas aeruginosa* (contenant de la pyocyanine) est exceptionnellement l'agent gastro-entérites (vomissements , diarrhées , crampes abdominales).(GUIRAUD , 1998)

Habitat :

Pseudomonas a été depuis longtemps isolée des produits laitiers (beurre, crème fraîche) et beaucoup plus rarement dans le lait conservé au froid et les produits carnés surtout les viandes .

On trouve couramment des espèces de *pseudomonas* dans le sol et d'autres milieux naturels. *Pseudomonas fluorescens* est souvent rencontrée comme agent d'altération des végétaux de même que *P. syringae* ,*P. cepacia*.(BOURGEOIS, 1996)(TORTORA , 2003)

Pouvoir pathogène :

Ils sont principalement des agents des altérations superficielles des aliments réfrigérés : viandes, volailles, poissons, lait et œufs (AIT ABDELOUAHAB, 2001), et peut être aussi responsable d'infections chez les immunodéprimés, infections oculaires, cutanées, otites

pulmonaires, uro-génitales ; infections méningées ostéo- articulaires entérites et septicémies (BOUSSONNE),(JOFFIN ,1999)

Toutes ces infections sont dues à *Pseudomonas aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) qui est l'espèce la plus répandue du genre *Pseudomonas* et la plus pathogène , elle constitue l'espèce type du genre et l'exemple type de la bactérie pathogène opportuniste ,car elle est caractérisée par les propriétés suivantes :

-protéolytique.

-production de deux pigments : pyocyanine (bleu) et pyoverdine (jaune – vert fluorescent)

-Production d'une entérotoxine nécrosante ,qui exprime son potentiel pathogène lorsqu'il introduit dans les défenses immunitaires diminués. Ils sont responsables des suppurations à pus bleu des blessures et des brûlures.

-Elaboration des protéines et des substances toxiques pour l'homme, l'animal de laboratoire ou les plantes : hémolysine thermostable, des exoenzymes (protéases phospholipase) et des toxines protéiques (exotoxine, entérotoxine) (LOUP AVRIL,1992).

De nombreuses espèces de *Pseudomonas* sont phytopathogènes , ce pouvoir serait dû à une phytotoxine .(LECLERE,1994).

III-2- Cocci Gram positifs :

III-2-1 Staphylocoques :

Staphylococcus appartient à la famille des micrococcacées .Genre de bactéries découvertes et isolées par Pasteur vers (1876-1880) à partir du pus d'un anthrax .En 1884 Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries .Avant Rosenbach , en 1883 Ogston à crée le nom « Staphylocoques » (BUGNICOURT,1995).Ils sont des cellules sphériques de 0.5 à 2.5 μ m de diamètre, à Gram positif , immobiles, disposées en amas à la façon d'une grappe de raisin, non sporulées. Les staphylocoques produisent une catalase ; ce qui les distingue des streptocoques. Ils sont aéro-anaérobies et cultivent facilement sur milieu ordinaire. . (LECLERE ,1994)(LOUP AVRIL, 1991)

Habitat :

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquistes très répandues dans la nature ; ils peuvent être saprophytes dans le sol, l'air, l'eau ou commensaux sur la peau et les muqueuses ,de nombreux mammifères (localisés dans les cavités buccales et nasales, les plis cutanés) , ou pathogènes .(LAR PENT,1997).

***Staphylococcus aureus* :**

Parfois appelé « Staphylocoque doré pathogène » . Il apparaît comme l'espèce de staphylocoque la plus pathogène à coagulase positif (SUTRA,1998) ; Il peut produire de nombreuses enzymes : protéase, lipase, coagulase liée (clumping factor) et coagulase libre nucléaire thermostable . Beaucoup de souches de *S. aureus* produisent des colonies jaune dorées. Les fosses nasales constituent le réservoir principal du genre ; Chez l'homme le portage nasal conserve 20 à 50% des individus. (BOURGEOIS, 1996).

Pouvoir pathogène :

S. aureus peut provoquer des infections diverses localisées (abcès, mammites) ou générales (septicémies) ou cause des maladies liées à la production de toxine (dermatoses bulleuses dues à la production d'exfoliatines , syndrome de choc toxique).

Des intoxications alimentaire dues à des souches productrices d'entérotoxines et qui sous administration par voie digestive provoque des vomissements (BOURGEOIS, 1996).

S.epidermidis peut être responsable d'infections de prothèses vasculaires ou articulaires, de valves cardiaques, *S.saprophyticus* peut être responsable d'infections urinaires (de 5 à 10%) [LOUP AVRIL, 1992].

Matériels et Méthodes

I-Matériel et méthode:

I-1-Objectif:

Le choix d'un agent anti-microbien "antibiotique" nécessite la recherche, la détection et l'identification du microorganisme responsable, on doit vérifier ou établir que l'agent anti-infectieux "l'extrait de lavande" a une activité sur les microorganismes considérés. Notre travail consiste à déterminer l'activité antibactérienne de l'extrait de la plante "lavande vraie" associée à des antibiotiques sur différentes souches bactériennes.

On a utilisé l'extrait butanolique de la lavande vraie, mais on n'a pas réalisé l'extraction au niveau du laboratoire.

I-2. préparation des suspensions bactériennes

*** Prélèvement des échantillons**

Les différents échantillons biologiques (selles, urines, pus, prélèvement vaginal)

Prélevés sur des malades hospitalisés ou personnes externes sont acheminés au laboratoire d'hygiène de Jijel et de laboratoire de l'hôpital de Jijel dans des tubes à essai, ou des écouvillons. Ils sont réalisés et conservés selon les règles d'asepsie pour éviter tout risque de contamination. Les différentes souches sont, *E. coli*, *salmonella*, *enterobacter*, *k/ebisella*, *shigella*, *proteu pseudomonas staohy/ococcus anreus*.

*** l'identification**

Les germes sont identifiés à partir du milieu sélectif selon différents critères : forme de colonies, couleur, galerie biochimique, coloration de Gram.

1- coloration de Gram

Elle aide à déterminer deux grands groupes appelés Gram + et Gram -, colorés respectivement en violet foncé et en rose, qui sont classés selon la composition de leur paroi cellulaire.

2-Identification biochimique (Galerie biochimique):

Les tests biochimiques sont indispensables à l'identification d'une bactérie. Ils reposent principalement sur la recherche d'enzymes responsables de métabolisme bactérien.

Le tableau suivant présente les caractères biochimiques et enzymatiques de quelques germes utilisés dans notre travail :

Caractère biochimique	Espèce	
	<i>Proteus</i>	<i>Shigella</i>
Glucose	-	-
lactose	-	-
saccharose	-	-
H ₂ S	-	-
gaz	-	-
Mobilisé	-	-
mannitol	-	-
citrate	-	-
VP proskaur	-	-
Rouge méthyle RM	-	-
indole	-	-
ADH	-	-
LDC	-	-
ODC	-	-
B- galactosidase β-gal	-	-
catalase	-	-

I-3.Evaluation de l'activité antibactérienne

-Préparation de la suspension bactérienne

La préparation de la suspension bactérienne consiste à dissocier quelques colonies de la bactérie étudiée dans un volume d'eau physiologique (Na cl 0.9%) égale 1ml.

I-3-1.Teste de diffusion en gélose

Méthode facile en apparence, elle est aussi la plus répandue en routine. Ce test est appelé antibiogramme.

I-3-1-1-le principe

La méthode consiste à déposer à la surface de la gélose coulée dans une boîte de pétri , est ensemencée avec le germe à étudier des disques antibiotiques imprégnés de substance testée (flavonoïdes), chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose à partir du disque et y détermine des gradients de concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque La substance antimicrobienne affecte des microorganismes même faiblement sensibles(les microorganismes résistants se développent jusqu'au disque)

Après 18 heures d'incubation à 37°C, les boîtes sont

4-3-1-2.technique

-Pour chaque souche bactérienne on prend deux boîtes de pétri (on utilise 16 boîtes de pétri), une boîte comme témoin et une autre boîte comme essai. -On coule la gélose Muller - Hinton sur les boîtes de pétri et on le laisse refroidir.

-On ensemence chaque boîte de Muller -Hinton avec le germe donné par la méthode d'étalement (en râteau) de telle sorte que toute la surface de la gélose soit ensemencée de manière homogène.

-Dans la première boîte pétri (boîte témoin) on dépose des disques d'antibiotiques sur la surface de la gélose Muller- Hinton.

-Pour la deuxième boîte pétri (boîte essai), on dépose les disques d'antibiotiques imprégnés dans l'extrait de la lavande (20 ul) sur la surface de la gélose ensemencée et on laisse des distances entre les disques.

-On laisse les boîtes reposer sur la paillasse pendant 30 minutes pour la diffusion des antibiotiques.

-On fait l'incubation à 37°C pendant 24 heures.

-Après l'incubation, les boites sont examinées, les disques sont entourés par des zones d'inhibition. .

Résultats

I-Résultas :

Les résultats de notre étude comportent :

- Les variations de la sensibilité des bactéries vis –à-vis de l'extrait de la « lavande vraie » associé à des antibiotiques selon la méthode de diffusion en gélose (antibiogramme) .

I.1- Activité antibactérienne de l' extrait de la lavande par la méthode de diffusion :

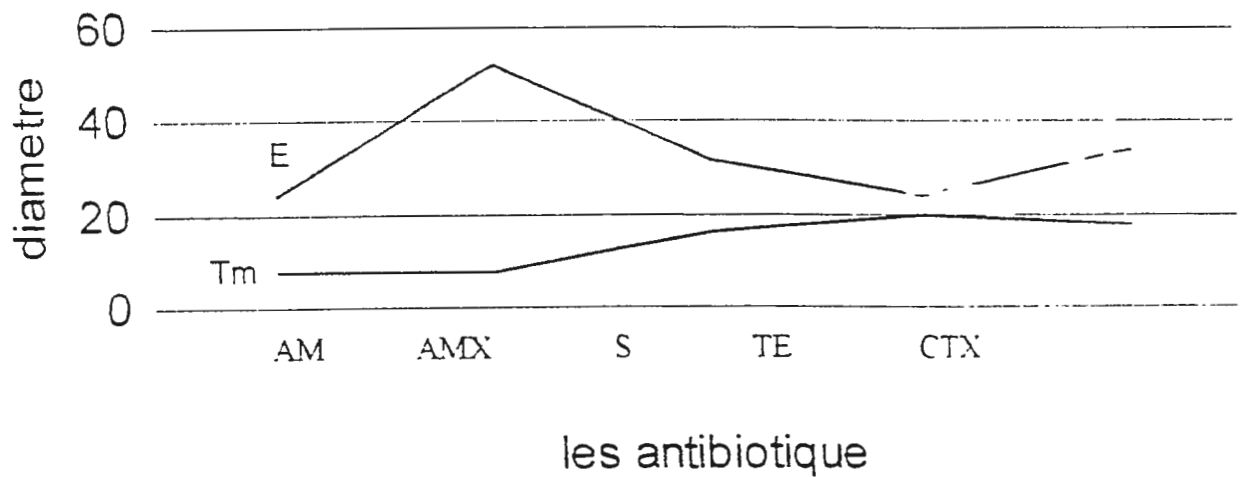
Les résultats obtenus à l'issue du test de diffusion de l'extrait de la plante (flavonoïdes) associé à des antibiotiques et les résultats des témoins (antibiotiques seuls) sur les différents germes bactériens sont représentés dans les huit tableaux suivants :

Tableau 3 : Etude de l'activité antibactérienne des flavonoïdes associés aux antibiotiques sur le genre bactérien *salmonella*.

Germe : <i>Salmonella</i>					
Antibiotiques	Ampicilline	Amoxicilline	Streptomycine	Tétracycline	Céfotaxime
Diamètre d'inhibition (mm)	AM	AMX	S	TE	CTX
Tm	8	8	16	20	18
E	24	52	32	24	34

Tm : Témoin (antibiotique seul).

E : Essai (l'extrait de la lavande vraie associé avec l'antibiotique).



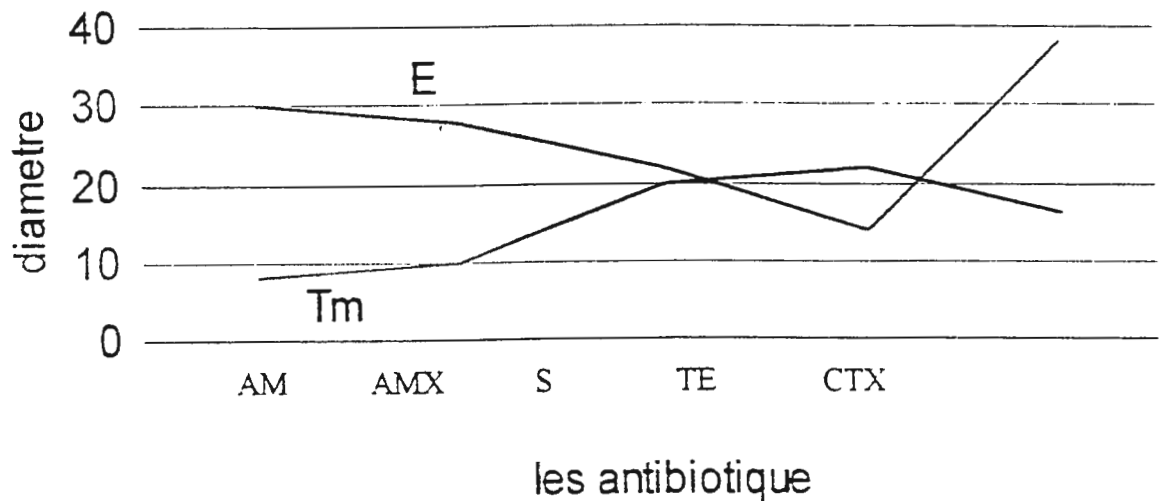
Courbe 1 : Etude de l'activité antibactérienne des flavonoïdes associés aux antibiotiques sur le genre bactérien *Salmonella*

Tableau 4 : Les variations des diamètres d'inhibition au cours de l'association de l'extrait de la lavande vraie avec les antibiotiques sur *Proteus*

Germe : <i>Proteus</i>					
Antibiotiques	Ampicilline	Amoxicilline	Streptomycine	Tétracycline	Céfotaxime
Diamètre d'inhibition (mm)	AM	AMX	S	TE	CTX
Tm	8	10	20	22	16
E	30	28	22	24	34

Tm : Témoin (antibiotique seul).

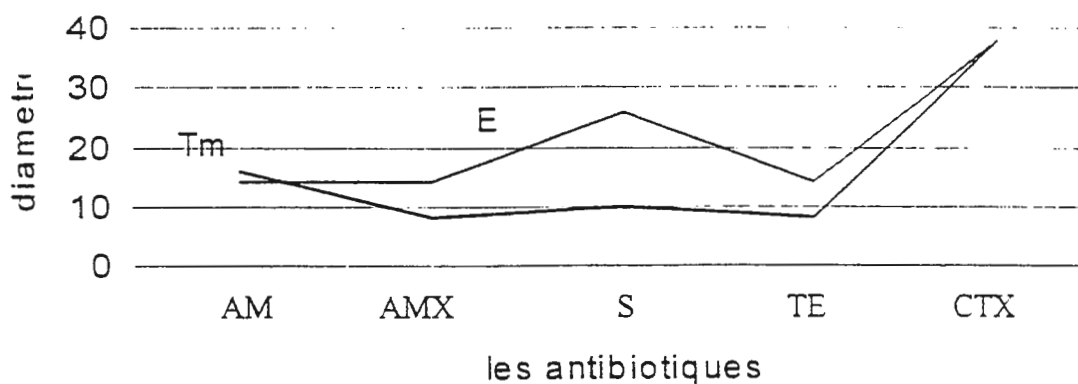
E : Essai (l'extrait de la lavande vraie associé avec l'antibiotique).



Courbe 2 : les variations des diamètres d'inhibition au cours de l'association de l'extrait de la lavande vraie avec les antibiotiques sur le germe *Proteus*.

Tableau 5 : Les variations des diamètres d'inhibition au cours de l'association de l'extrait de la lavande vraie avec les antibiotiques sur *Klebsiella*

Germe : <i>Klebsiella</i>					
Antibiotiques	Ampicilline	Amoxicilline	Streptomycine	Tétracycline	Céfotaxime
Diamètre d'inhibition (mm)	AM	AMX	S	TE	CTX
Tm	16	8	10	8	38
E	14	14	26	14	38



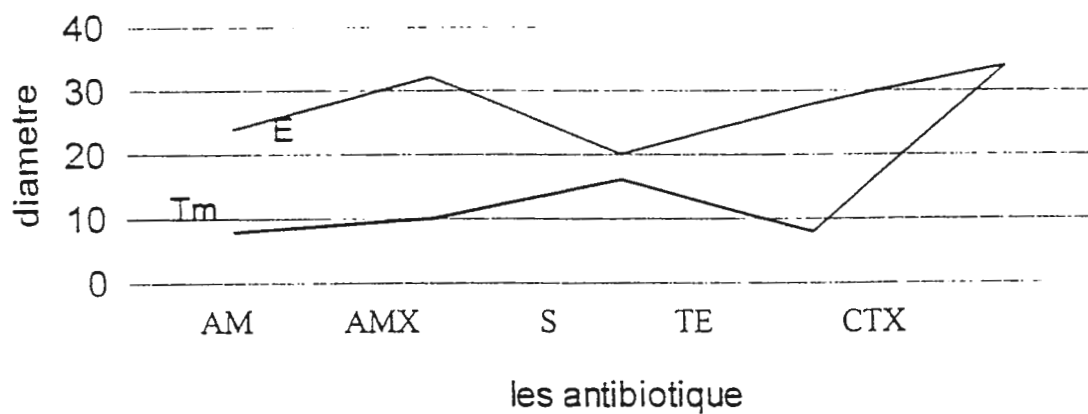
Courbe 03 : Les variations des diamètres d'inhibition au cours de l'association de l'extrait de la lavande vraie avec les antibiotiques sur *Klebsiella*

Tableau 6 : evaluation de l'activité antibactérienne des flavonoides associés aux antibiotiques sur le genre *Shigella*

Germe : <i>Shigella</i>					
Antibiotiques	Ampicilline	Amoxicilline	Streptomycine	Tetracycline	Céfotaxime
Diamètre d'inhibition (mm)	AM	AMX	S	TE	CTX
Tm	8	10	16	8	34
E	24	32	20	28	34

Tm : Témoin (antibiotique seul)

E : Essai (l'extrait de la lavande vraie associée avec l'antibiotique)



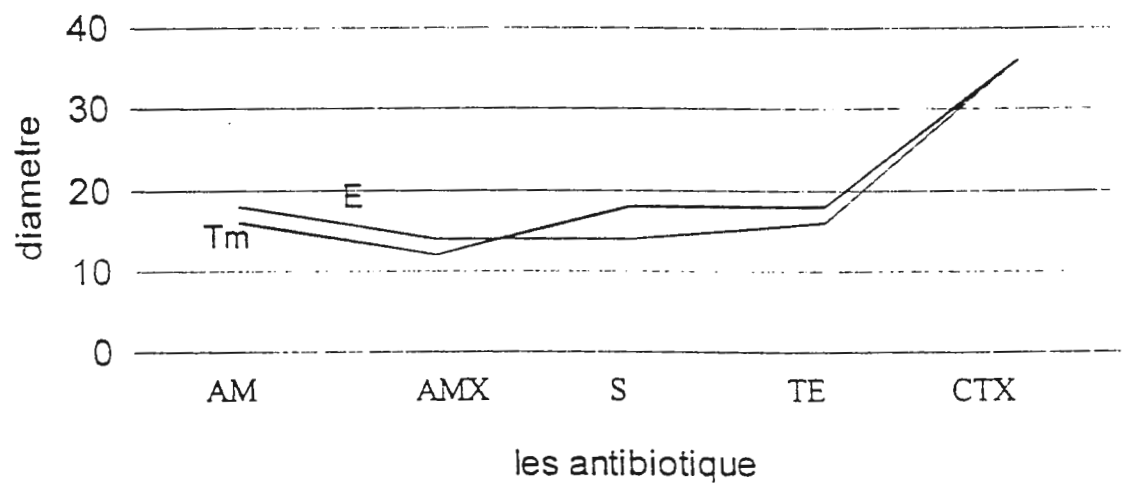
Courbe 04 : evaluation de l'activité antibactérienne des flavonoides associés aux antibiotiques sur le genre *Shigella*

Tableau 7 : Les variations des diamètres d'inhibitions au cours de l'association de l'extrait de la lavande vraie avec les antibiotiques sur l'espèce *E-coli*.

Germe : <i>E-coli</i>					
Antibiotiques	Ampicilline	Amoxicilline	Streptomycine	Tétracycline	Céfotaxime
Diamètre d'inhibition (mm)	AM	AMX	S	TE	CTX
Tm	16	12	18	18	36
E	18	14	14	16	36

Tm : Témoin (antibiotique seul)

E : Essai (l'extrait de la lavande vraie associée avec l'antibiotique)



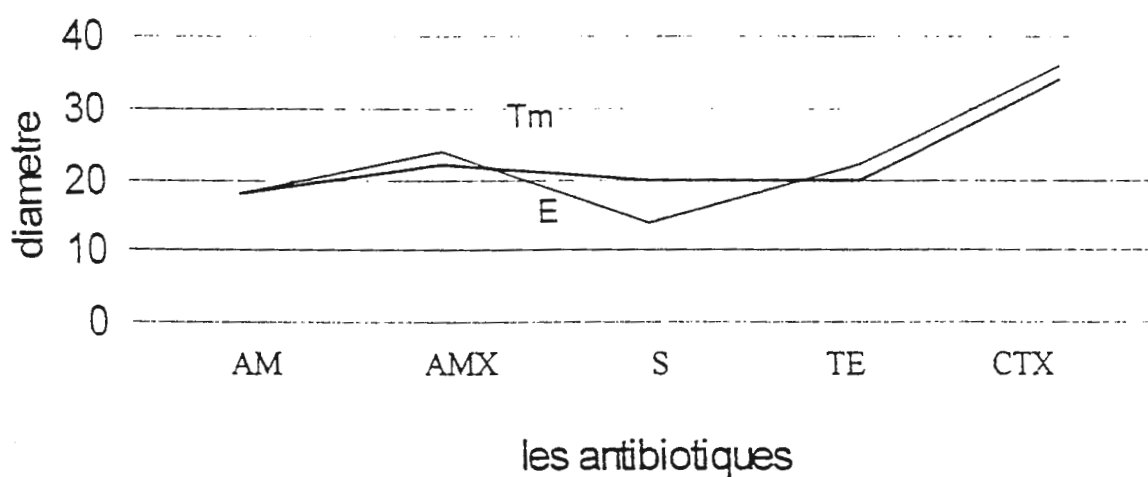
Courbe 05 : Les variations des diamètres d'inhibitions au cours de l'association de l'extrait de la lavande vraie avec les antibiotiques sur l'espèce *E-coli*.

Tableau 8 : Evaluation de l'activité antibactérienne des flavonoides associés aux antibiotiques sur le genre *Enterobacter*

Germe : <i>Enterobacter</i>					
Antibiotiques	Ampicilline	Amoxicilline	Streptomycine	Tétracycline	Céfotaxine
Diamètre d'inhibition (mm)	AM	AMX	S	TE	CTX
Tm	18	22	20	20	34
E	16	24	14	22	36

Tm : Témoin (antibiotique seul)

E : Essai (l'extrait de la lavande vraie associée avec l'antibiotique)



Courbe 06 : Evaluation de l'activité antibactérienne des flavonoides associés aux antibiotiques sur le genre *Enterobacter*

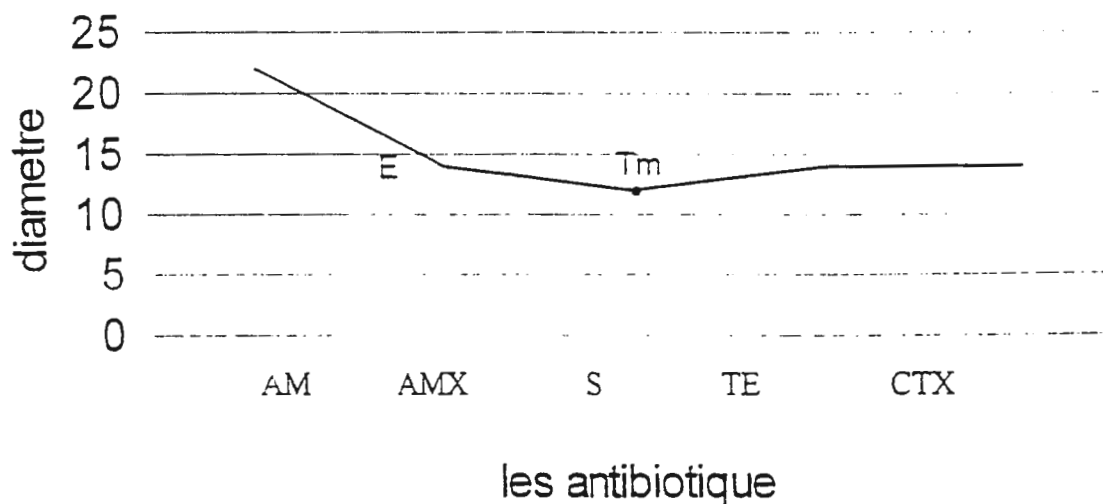
Tableau 9 : Etude de l'activité antibactérienne des flavonoïdes associés aux antibiotiques sur le genre *Pseudomonas*

Germe : <i>Pseudomonas</i>					
Antibiotiques	Ampicilline	Amoxicilline	Streptomycine	Tétracycline	Céfotaxime
Diamètre d'inhibition (mm)	AM	AMX	S	TE	CTX
Tm	-	-	12	-	-
E	22	14	12	14	14

Tm : Témoin (antibiotique seul)

E : Essai (l'extrait de la lavande vraie associée avec l'antibiotique)

(-) : absence de l'activité de l'antibiotique (résistance)



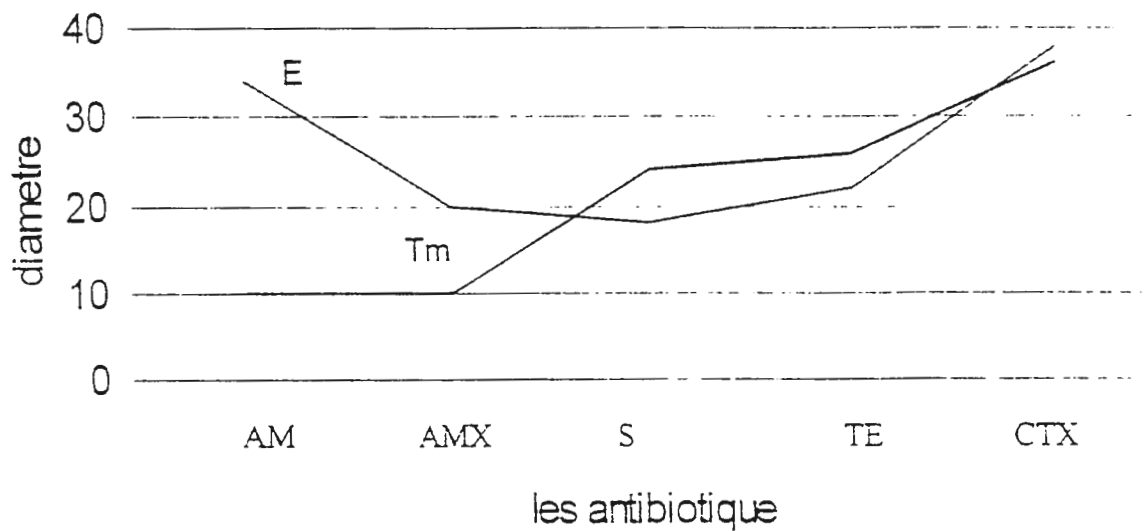
Courbe 07 : Etude de l'activité antibactérienne des flavonoïdes associés aux antibiotiques sur le genre *Pseudomonas*

Tableau 10 : Les variations des diamètres d'inhibition au cours de l'association de l'extrait de la lavande vraie avec les antibiotiques sur *Staphylococcus aureus*

Germe : <i>Staphylococcus aureus</i>					
Antibiotiques	Ampicilline	Amoxicilline	Streptomycine	Tétracycline	Céfotaxime
Diamètre d'inhibition (mm)	AM	AMX	S	TE	CTX
Tm	10	10	24	26	36
E	34	20	18	22	38

Tm : Témoin (antibiotique seul)

E : Essai (l'extrait de la lavande vraie associée avec l'antibiotique)



Courbe 08 : Les variations des diamètres d'inhibition au cours de l'association de l'extrait de la lavande vraie avec les antibiotiques sur *Staphylococcus aureus*

Discussion et Interprétation

II – Interprétation des résultats et discussion :

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

Dans notre étude, on a évalué l'activité antibactérienne de l'extrait de la plante " lavande vraie " en association avec les antibiotiques avant de déterminer ensuite les souches qui sont sensibles par l'utilisation du test de diffusion sur gélose (antibiogramme). Cette association entre l'extrait (flavonoïdes) et les antibiotiques manifeste des variations des diamètres d'inhibitions pour les bactéries Gram - et à Gram +. Ces variations peuvent être due à la différence de la composition chimique de la paroi pour les Gram - par rapport à celle des Gram + .

Les résultats ont montrés une bonne activité antibactérienne sur quelque souches bactériennes à Gram - comme : *Salmonella*, *Proteus*, *Shigella*, *Klebsiella* et *Pseudomonas*.

Par exemple pour *salmonella*, on a obtenue pour l'association de l'extrait (flavonoïdes) avec les antibiotiques Amoxicilline(AM) 24mm , 52 mm pour l'Amoxicilline (AMX) et 34 mm pour céfotaxine(CTX), par contre pour le témoin(antibiotiques seuls), on constate des diamètre de 8 mm pour (AM) et (AMX) et de 18 mm pour (CTX).

Le cas de *proteus*, on observe pour l'essai des zones d'inhibitions avec des diamètres de 30 mm, 28 mm et 34 mm pour(AM), (AMX) et (CTX) respectivement. Dans le cas de témoin, les diamètres sont:

8 mm, 10 mm et 16 mm pour (AM), (AMX) et (CTX) respectivement.

On trouve que le genre *pseudomonas* est résistant pour les antibiotiques AM , AMX ,TE (tétracycline) et CTX dans le cas de témoin, par contre dans le cas d'essai, il y a une sensibilité remarquable avec des diamètres d'inhibition de 22 mm pour (AM) et 14 mm pour (AMX), (TE) et (CTX).

Par contre, les germes bactériens:*Staphylococcus aureus* ,*E.coli* et *Enterobacter* manifestent une légère sensibilité vis-à-vis des flavonoïdes associés aux antibiotiques.

Sauf, il y a des exception, pour *Klebsiella*, on constate une même activité de l'essai par rapport au témoin avec un diamètre de 38 mm pour le céfotaxine(CTX).

Pour *Staphylococcus aureus*, on a obtenue une activité importante de l'extrait (flavonoides) associe à l'ampicilline (AM) et l'amoxicilline (AMX) avec des diamètres de 34 mm et 20 mm respectivement. Cependant pour le témoin, on constate un diamètre de 10 mm pour les deux antibiotiques (AM et AMX).

On enregistre que l'activité antibactérienne de l'extrait varie selon le type bactérien (Gram +et Gram-) et le type d'antibiotique (c'est –à-dire la sensibilité ou la résistance de la bactérie, à l'égard de l'antibiotique).

Il est donc clair qu'il y a une influence significative de l'extrait de la plante sous forme de flavonoides lorsqu'il est associé aux antibiotiques sur quelques genres bactériens en particulier les Gram-.

Conclusion

Conclusion

Depuis la nuit des temps , on identifie un grand nombre de plantes et noté leurs propriétés thérapeutiques . l' association des antibiotiques avec l'extrait de la plante « lavande vraie» (flavonoides) est un nouveau domaine de recherche concernant l' amélioration des antibiotiques pour donner une forte efficacité contre les infections bactériennes .

La phytothérapie ou l'art de se soigner par les plantes , tire parti de tous les éléments des plantes . Elle est sans contexte la médecine la plus vieille du monde qui représente une alternative douce et naturelle .

Dans notre travail , on a pu prouvé l'activité de l'extrait de « lavande vraie » in vitro sur différentes souches bactériennes à partir du test de diffusion en gélose .Les résultats montrent une sensibilité des germes Gram – :

Salmonella ,prote us , shigella et pseudomonas , par rapport au témoin .Par contre pour les Gram+ (*Staphylococcus aureus*), on a trouvé une légère sensibilité lors de l'association (flavonoides –antibiotiques) par rapport au témoin .

Nous pouvons dire, que cette plante est riche en principes actifs et qui peut permettre par extraction d'élaborer des médicaments antimicrobiens .

Il est donc clair qu'il y a une activité plus significative lorsque l'extrait est associé avec les antibiotiques .

Annexes

ANNEXE 1

Milieux de cultures

Milieu Mueller - hinton

Infusion de viande de boeuf	300g
Hydrolysat de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Gélose	10g
PH 7,5	

Milieu urée - indole

Tryptophane	3g
Phosphate mono potassique	1g
Phosphate dipotassique	1g
Chlorure de sodium	5g
Urée	20g
Alcool à 95°	10g
Solution de rouge de phenol à 1 %	2,5 ml
Eau distillée	1000 ml
PH 6,7	

Milieu de Moeller

Milieu de Base : milieu témoin	
Na cl	5g
Extrait de levure	3g
Glucose	1g
Bromocrésol pourpre en sodium à 1 %	1,5 ml
Eau distillée	1000 ml
PH 6,3	

Milieu Clark et Lubs

Peptone tryptique de caséine	5g
Phosphate bi potassique	5g
Glucose	5g
Eau distillée	1000ml
PH 7	

Milieu manitol-mobilité

Peptone Pancreatique de viande	20g
Agar- agar	4g
Mannitol	2g
Nitrate de potassium	1g
Rouge de phenol en solution à 1%	4ml
Eau distillée	1000 ml

PH 8.1

Milieu au citrate SiM Mons

Sulfate de magnésium	0.2 g
Phosphate monoammoniaque	1g
Phosphate bi potassique	1g
Citrate de sodium	5g
Bieu de bromotymol	0.08g
Gélose	15g
Eau distillée	1000 ml

PH 7-7.2

Gélose T. S. I

Peptone	20g
Extrait de viande	3g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Glucose	1g
Lactose	10g
Saccharose	10g
Citrate de fer	0.5g
Hyposulfite de sodium	0.5g
Rouge de phénol	0.025g
Gélose	12g

PH 7.6.

Annexe 2

- Technique de coloration de Gram
- Préparer un frottis sur une lame, sécher et fixer à la chaleur.
- Recouvrir le frottis avec la solution de violet de gentiane
- Laisser agir une minute
- Recouvrir la lame avec la solution de lugol, laisser agir 1 minute
- Rincer à l'eau
- Décolorer par l'alcool acétone, laver à l'eau.
- Recouvrir par une solution de fushine, laisser agir 30 seconds.
- Laver à l'eau
- Sécher la préparation entre deux feuilles de papier filtre.
- Examiner à l'emmertion .

Annexe 3

Identification biochimique :

1-Métabolisme glucidique :

a-Fermentation des sucres en milieu TSI :

Ce milieu contient trois sucres, des peptones, du fer, sulfate... et un indicateur de pH (le rouge de phénol: rouge à pH neutre, rose à pH alcalin et jaune à pH acide). Ce milieu permet la recherche de cinq caractères :

- Glucose (culot) .
- Lactose, saccharose (la pente)
- H₂S : noircissement du milieu
- Le gaz : la présence du gaz se traduit soit par des bulles d'air soit par un décollement de la gélose.

b-Attaque du mannitol :

Le milieu utilisé c'est le mannitol mobilité, milieu semi solide qui contient un sucre, le mannitol est un indicateur de pH (rouge de phénol). Il permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol, et la mobilité bactérienne.

2-Recherche des produits résultants de la fermentation des glucides :

2-1-Réaction du rouge de méthyle (RM) :

Cette réaction permet de mettre en évidence les bactéries productrices des acides organiques à courtes chaînes (acide acétique, acide fumarique).

Ces acides organiques maintiennent le pH de la culture à degré suffisamment bas pour que le rouge de méthyle garde sa coloration rouge.

2-2-Réaction de voges-proskauer :

La réaction consiste à déceler dans les cultures microbiennes, la présence d'acétyle méthyle carbinol au acétoine qu'est produit à partir de la décarboxylation du pyruvate .

3-Utilisation des citrates :

Le milieu de citrate de Simmons permet la recherche du citrate. Il contient le citrate comme seule source de carbone et un indicateur de pH (bleu de bromothymol) qui est vert à pH acide et bleu à pH alcalin.

4-Mise en évidence des enzymes respiratoires :

Catalase

a-catalase : $2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

Prélever une colonie et déposer sur lame, ajouter une goutte de H₂O₂ (30%) sur les bactéries.

5-Recherche d'indole :

Certaines bactéries dégradent le tryptophane en indole acétique. seules les bactéries indologènes permettent cette dégradation jusqu'à la formation d'indole.

6-Métabolisme des acides aminés (les décarboxylases) :

- Recherche de lysine décarboxylase (LDC)
- Recherche de l'ornithine décarboxylase (ODC)
- Recherche de l'arginine déshydroxylase (ADH)

Ces enzymes forment à partir des acides aminés des substances alcalines (cadaverine, putricine) qui font virer l'indicateur de pH.

Les bactéries fermentent le glucose contenu dans le milieu de Moeller qui devient acide. Les décarboxylases présentent une activité maximale à pH acide et lorsque les bactéries possèdent ces enzymes, les métabolites aminés formés à partir de la décarboxylation de ces acides aminés alcalinisent le milieu et font virer l'indicateur de pH.

7-Recherche de la beta-galactosidase :

Certaines bactéries qui acidifient le milieu lactosé possèdent une enzyme qui scinde le lactose en glucose et galactose. cette enzyme est appelé la galactosidase.

Une solution d'orthonitrophénol-beta-galacto-pyranoside (disque d'ONPG) est incolore. Cette molécule est scindée comme le lactose par la galactosidase . libère l'orthonitrophénole, jaune en solution.

Bibliographie

Bibliographie

- ACAR J, et al. Antibiotique agents antibactériennes et antifongiques ellipses édition, Paris 199, p.86-87-617-620.
- ADAM H, BOUDET R-DALBIN, BRION J.D BUXERAUD J. Médicaments antibiotiques, traité de chimie thérapeutique volume 2, 1992, p .35 -39-336 -357-382.
- AIT ABDELOUAHAB N. *Microbiologie alimentaire, université de Constantine. Alger*, 2001, p.22-23-
- BERRETZ A, CAZENAVE J. The effect of flavonoid on blood vessel wall interactions. *Prog clin Biol Res* 1988 ; 280: 187- 2000.
- BLANCHMAISON P. les phlébotonique de 1930 à nos jours. *Act Med Angiologie* 2000,54 :4-473.
- BOISSON NET B et al .Abrégé de bactériologie générale et appliquée , France p .184.
- BOULAHBALE F. *Microbiologie S 1 clinique, ALGER*, 1993, p.130 -136- 139- 145.
- BOULKOUR S. *Etude du rôle des flavonoïdes dans la prévention de la toxicité hématologique, hépatique et Rénal de la vinblastine l'isoniazide et du paracétamol*, thèse de Magistère ,2004.
- BOURGOIS CM, LARPENT J.P. *Microbiologie alimentaire*, Paris, 1998, p.84-85.
- BOUSSEBOUA H. *Elément de Microbiologie générale Janvier 2002*, p.167 -169- 170-171.
- BOUSSENANE H et SLIMANI W. *Effet préventif des flavonoïdes sur l'hématotoxicité d'un médicament anticancéreux chez le rat, mémoire DES, 2001.*
- BUGNICOURT M. *Dictionnaire de Microbiologie générale, édition Marketing s.a, France, 1995, p.867-894.*
- CHANVALLON C, BLANCHEMAISON P, CANCE - SANCHEZ B. Les flavonoides. *Act Med Angiologie* 1994 ; 197 : 3846-50.
- COOK NC et SAMMAN S *Flavonoïdes- chemistry,métabolisme,cardioprotective effects and diatery sources . J Nutr Biochem ,1996 ; 7 :66-76.*
- DJERROUMI A, NACEF N . *100 plantes médicinales d'Algérie, édition palais du livre, 2004, P 88- 89.*
- DUVAL J, SOUSSY C.J. *Antibiothérapie, 4^{ème} édition* ,paris, Milan , Barcelone,

- .Mexico, 1990, p. 94 -109 -113 – 143.
- EBERLIN T. Les antibiotiques classification, mode d'action , utilisation thérapeutique, France, 1994 , p . 9 - 17-19-22 -32 -33 - 40 -97 -98.
- GERHARD R .*Métabolisme des végétaux physiologie et biochimie*, Paris, 1993, P.15-32.
- GRUND. Les plantes médicinales, 256 illustrations en couleurs, 1986, P. 186.
- GUIRAUD J. P. Microbiologie alimentaire, Pa ris, mars 1998, p 84 - 85.
- HERTOG . MGI HOLLMAN PCN , VAN DE PUTTE B . Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusion,wines and fruit juices.j Agic food chem. 1993; 41; 1242 -1246.
- HUSAIN SR,GILLARD J. GILLARD P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids phytochemistry 1987 ; 26: 2489 – 2491.
- JEAN B. *Pharmagnosie, phytochimie, plantes médicinales*, lavoisier éd, 1993. P. 266-280.
- JOFFIN CH. Microbiologie alimentaire ^{5ème} édition, 1999, p .31-125.
- LARPENT J et al Mémento technique de Microbiologie,3ème édition France, 1997,p.474.
- LASZLO P. Le savoir des plantes, édition Marketing S.A, Paris, 2000, P. 20.
- LECHAT .Abrégé de pharmacologie, Paris, 1982, p.110 -131 -147-161-172.
- LECLERC H, IZARD D. Microbiologie générale, 1995, P. 95.
- LECLERE H, GAILLARD JL, SIMONET M. Microbiologie générale,la bactérie et le monde bactérien,Paris 1994,p 405-408-420
- LECLERE H, MEYER A, DEIANA J. Cours de microbiologie générale, nouveau programme, paris , 1999, p.223
- LOUP AVRIL J et al. Bactériologie clinique,^{2ème} éd, Paris, 1992,p.24-150-153-160-163-185-188-192 270.
- LOUP AVRIL J. Dictionnaire pratique de bactériologie clinique, édition Marketing ,1991 p .41-57-105.
- MAHMOUDI Y. La thérapeutique par les plantes les plus communes en Algérie, AIN- TAYA (Algérie), p. 55- 57.
- MAXWICH, MARBIN G. *Plantes thérapeutiques*, édition française, P. 306-307.

- MENSUEL de formation et d'information médicales. Plantes médicinales et phytothérapie, Alger, 1996.
- MOLLARET H.H Médecine et maladies infectieuses 1 ère et 2^{ème} partie Paris ,1984 , p 760-775.
- MOUSTARDIER G. Bactériologie 4^{ème} édition. 1972.
- PRESCOTT, HARLY , KELIEN. Microbiologie 2^{ème} édition françaises, Espagne, 2003 ,p.815-817.
- ROBAK J, GRYGLEWSKI RJ. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. Biochem pharmacol 1988, 37,837-841.
- ROUIBAH H et al .Evaluation de la peroxydation lipidique au cours du traitement par le paracétamol seul ou associé aux flavonoïdes , mémoire DES ,2003.
- SEBALD M, PETIT J C. Méthode de laboratoire bactéries anaérobies et leur identification. 2^{ème} éd, France, aout 1996 p.106-107-109-110.
- SINGLETON P. Bactériologie 4^{ème} édition, Mars 1999, p.24-387-392.
- SUTRA L et al. Manuel de bactériologie alimentaire, Paris, 1998, P. 27-37.
- SWIES J, ROBAC J, DABROWSKI L, DUNIEC Z, MICHAISKA Z, GRYGIEWSKI J. Antiaggregatory effects of flavonoids in vitro . Pol J pharmacol pharm 1984 ; 36 : 455-463.
- TIMOUR Q. Odonto -pharmacologie clinique CDP achat -CELF, 2000, p.105.
- TORTORA G.J, BERDELL R FUNKE, CHRISTIAN L. Introduction à la microbiologie, édition de renouveau pédagogique Inc, 2003 p.5-94-337,770.
- Universalis : Article de l'encyclopaedia 2004, « CD »
- VAN BAMBEKE F, TULKENS P. Pharmacologie et pharmacothérapie anti-infectieuse, Bruxelles, 1997, P . 1-45-46-70
- SITE INTERNET :
- 1)- WWW. SCIENCE DIRECTE/HTTP://WWW.LE NATUREL.COM. /INDEX 76A.HTM.
- 2)-WWW.GOOGLE /PHYTOKEA.COM.
- 3)-WWW.GOOGLE / PLANTES AROMATIQUES MÉDICINALES AROMATHÉRAPIE PHYTOTHERAPIE .HTM

Résumé

Dans l'antiquité, la plante fut pivot de la thérapie humaine .celui-ci est due que les plantes médicinales contiennent des principes actifs ,qui passionnent les scientifiques actuels spécialisés dans ce domaine d'étudier et essayent de comprendre le mode d'action de ces composés sur différentes infections.

Dans notre étude, on a essayé d'étudier l'activité des antibiotiques en association avec l'extrait (flavonoïdes) de la plante (lavande vraie) et de connaître l'efficacité de cette association contre de nombreuses infections causées par plusieurs souches bactériennes.

Notre travail a montré une augmentation de la zone d'inhibition de la pousse bactérienne pour *Pseudomonas*, *Proteus*, *salmonella*, *shigella*.

Nous avons conclu ,a la fin que lavande vraie contient des principes actifs qui ont un effet antibactérien sur différentes souches bactériennes .

Mots clés : flavonoïdes, antibiotiques, l'activité antibactérienne, lavande vrais.

المخلص

مند القدم كانت النبتة العلاج الاساسي لامراض البشرية . وهذا راجع الى ان هذه النباتات الطبية تحتوي على مواد نشطة التي حمست العلماء المختصون في هذا الميدان بدراسة ومحاولة فهم طريقة تأثير هذه المركبات على مختلف الامراض. في دراستنا التي قمنا بها, حاولنا دراسة نشاط المضادات الحيوية, بجمعها مع مستخلص الفلافونويدات نبتة الخزامي ومعرفة مدى فعالية هذا الاشتراك ضد العديد من الاصابات التي تسببها الكثير من العزلات البكتيرية

لقد بينت دراستنا زيادة قطر حساسية بعض البكتيريا لهذا التجمع بين المستخلص والمضاد

الحيوي مثل بسودوموناس, سلمونالا, شيقالا

في النهاية, نستنتج أن نبتة الخزامي تملك مركبات نشطة ذات تأثير فعال على العديد من أنواع البكتيريا.

- كلمات المفتاح: الفلافونويدات, مضادات حيوية, نشاط ضد بكتيري, الخزامي .

the summary :

In the antiquity , the plant was the essential man the raspy ,perhaps, this is due to that medicinal plants contain active principals , which fascinate current scientists specialized in this field to study and try to understand compounds 's action method on different illness.

In our study , we have try to study , the activity of antibiotic , in association with the extrat (flavonoids) of « lavande vraie » as well as to know , the efficacy of this association ,on multiple bacteria

Our work have showd à large zone of inhibition on bacterial growth , such as : *pseudomonas* , *proteus* salmouella , *shigella* .

At the end ,we' ve concluded that 'lavande vrai' contains active principales wich have an effect against bacteria.

key words : flavonoids , antibiotic , antibacteriel activity , lavender