République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement supérieur et de la recherché scientifique
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Centre universitaire de Jijel
المركز الجامعي عبد الحق بن حمودة -جيجل-

Institut des sciences de la nature
معهد العلوم الطبيعية

MB. 08/02

جامعة محمد الصديق بن يحيى
كلية علوم الطبيعة و الحياة
المكتبة
239
الجرد :

MEMOIRE

En vue de L'obtention du diplôme
D'études supérieures en biologie.
Option : Microbiologie

Thème

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

Encadreur :
- ROULA Sadjia

Réalisé Par :
- RAS EL AIN Hassina
- ZEMMOURI Amel
- REZAIKI Soria

Promotion 2002

N° d'ordre :

Remerciements

- *Nous remercions Madame ROULA SADJIA pour sa confiance et sa disponibilité et l'aide précieuse qu'il nous a prodiguée a fin d'accomplir ce travail .*
- *Nos remerciements vont aux membres du jury et touts les enseignants .*
- *Nos remerciements a tous ceux qui nous ont aidés pour la réalisation de ce travail surtout a Monsieur :*

BAADACHE ATMANE , ROULA BILAL

- *Un grand merci pour les responsables de laboratoire de l'institut de sciences de la nature:*

SONIA et NADJIBA .

TABLE DES MATIERES

Introduction 1
I-Analyse bibliographique 2
1- Généralité sur chêne-liège 2
1-1-Définition du chêne 2
1-2-Définition de chêne-liège (*Quercus suber*) 2
1-3- Le liège 2
1-4-L'écorce du chêne-liège 2
1-5- Classification de chêne-liège 3
1-6- Composition chimique du liège 3
2- Généralité sur le tanin 4
2-1-Définition des tanin 4
2-2-Origine biosynthétique 4
A- Tanins condensés 4
B- Tanins hydrolysables 4
C- Tanins galliques 4
D-Tanins éllagiques 4
2-3-Nature chimique des tanins 5
2-4- Répartition systématique et localisation de tanin 6
2-5- Propriétés biologiques de tanin 6
2-6- Formation du tanin 6
2-7- Action des tanins 7
2-8- Extraction 7
3-Généralité sur les antibiotiques 7
-Définition des antibiotiques 7
II- Matériels et Méthodes 8
1-Objectif 8
2- Préparation de l'extrait 8
2-1-Préparation de l'extrait a partir de l'écorce naturelle 8
2-2- Préparation de l'extrait a partir des résidus résineux 8
3- Préparation des souches : 9

4- Evaluation de l'activité antibactérienne 10
4-1- Test de diffusion (méthode des disques) 10
a- Principe 10
b- Préparation des disques 10
c- L'antibiogramme 10
4-2- Test de dilution sur milieu solide 11
III- Résultats 12
IV- Discussion 18
Conclusion 19
Bibliographie
Annexe

INTRODUCTION

Introduction :

Depuis Longtemps, la vie de l'homme a été étroitement liée au monde des plantes. Ils les a non seulement utilisées comme source de nutrition, mais également en tant que remède a ses multiples malaises.

Une plante est dite médicinale lorsque: «au moins une de ses parties possède des propriétés médicamenteuses ». Leur utilisation a des fins thérapeutiques remonte aux temps les plus reculés, mais ce n'est qu'a partir du 19eme siècle, que la médecine scientifique a commencé a s'intéresser aux effets physiologiques en terme d'efficacité thérapeutique, mais aussi de toxicité.

Aujourd'hui, plus de la moitié des molécules d'intérêt pharmacologique sont plus au moins directement issus de substances naturelles.

Des milliers de plantes sont des sources encore peu exploitées de substances bioactives.

Il s'agit d'un clavier infini dont dispose le chercheur pour la découverte de nouveaux médicaments.

En effet, des milliers d'extraits et de molécules naturelles, pharmacologiquement actives constituent pour l'avenir un formidable creuset pour la découverte de nouveaux médicaments.

C'est dans ce cadre que se situe notre étude. qui porte sur l'arbre du chêne-liège lequel constitue une source active sur le plan médical, pour ses propriétés curatives. Elle consiste a tester l'activité antibactérienne de l'extrait de cette plante sur différentes souches microbiennes isolées de différents prélèvements pathologiques.

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

I- Analyse bibliographique:

1- Généralité sur chêne-liège:

1 – 1-Définition du chêne :

Arbre au bois dur largement distribué dans les zones tempérées de l'hémisphère Nord. Le genre du chêne comprend environ 300 espèces telle-que: le chêne-rouvre, le chêne pédonculé, le chêne-vert et le chêne-liège.

Plusieurs espèces produisent des tanins qui sont utilisés pour le travail du cuir; d'autre fournissent des teintures que l'on extrait de leur écorce [14].

1- 2-Définition du chêne-liège *(Quercus –suber)* :

Dans la nature le chêne-liège est un élément du maquis méditerranéen qui se partage l'espace avec d'autres essences arboricoles, tell-que *Quercus–ilex*, et une multitude d'arbustes comme *Arbutus –unédo*, et d'éssence aromatique [13].

Le chêne-liège est un arbre particulièrement polyvalent dont l'exploitation complète (bois, tan et écorce) débouche sur des productions fort variées: rien ne se perd dans le chêne –liège [12].

1- 3- Le liége:

Le liège résulte de l'accumulation de tissus morts, et est composé d'un empilement d'alvéoles remplies de gaz qui le rend léger. Cette structure est traversée par des canaux (les lenticelles) qui régularisent les échanges gazeux avec l'extérieur. On trouve deux catégories de liège: le liège mal et le liège femelle [12].

1- 4-L'écorce du chêne-liège :

L'écorce du chêne –liège adulte se compose de deux zones concentriques bien distinctes et de nature différente :

- La zone extérieure formée d'un tissu spongieux, mou, élastique appelée le liège ou enveloppe subéreuse et qui est une simple couche de protection.
- La zone intérieure, en contact direct avec le bois, formé d'un tissu fibreux: c' est le liber, vulgairement appelé la mère ou encore tanin [10].

1- 5– Classification du chêne –liège :

Le chêne-liège a été décrit pour la première fois par LINNE en 1953 il appartient a:

-Embranchement : *Angiospermes*

-Classe : *Dicotylédones*

- Famille : *Fagacées ou cupulifères*

- Genre : *Quercus*

-Espèce : *Quercus suber –L* [9]

1- 6- Composition chimique de liège :

Le liège est constitué de 6 éléments:

- **La subérine pour 45%** : principal composant des parois des cellules du liège et lui permettant son élasticité.
- **La lignine pour 27%** : elle permet la liaison entre les divers composants.
- **Les polysaccharides pour 12%** : composants des parois des cellules, ils contribuent a la définition de la texture du liège.
- **Les tanins pour 6%** : ils déterminent la couleur.
- **Les céroïdes pour 5 %** : composés hydrophobes assurant l'imperméabilité.
- **Les autres constituants pour 5 %** : minéraux, eau, glycérine [11].

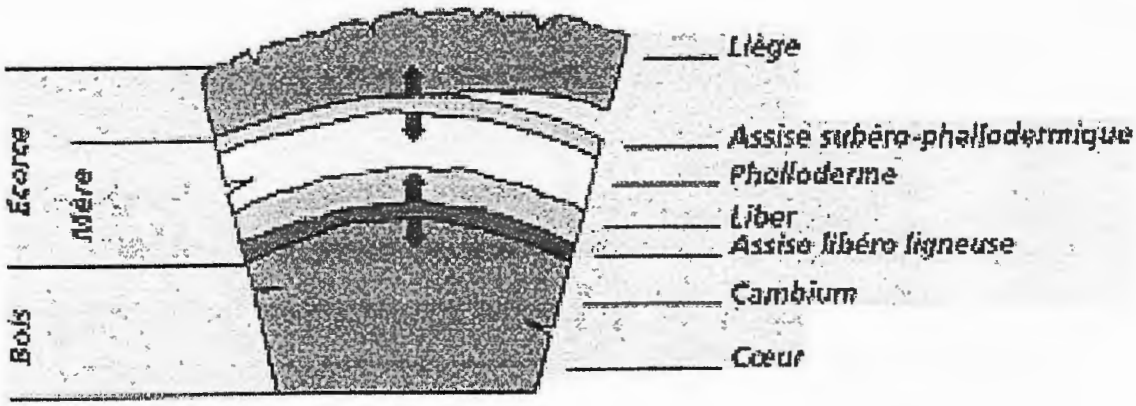


Schéma 1 : Différentes couches de l'arbre de chêne- liège.

2- Généralité sur le tanin :

2- 1- Définition des tanins :

Les tanins sont des substances végétales normalement contenue dans certains plantes, et dont les propriétés sont assez différentes pour permettre leur classification. Selon leur origine ou leur structure, on distingue des tanins d'origine pathologique, telle que la Gall de chêne. D'autres tanins ont une origine naturelle, leur action médicamenteuse est plus douce et ils sont propres au tannage après extraction, mais on utilise les végétaux qui en contiennent pour leur propriétés astringentes.

Certains tanins sont de variables glucosides, tel que le tanin de la noix de gall, d'autres sont constitués par des phénols ou des acides phénoliques [1].

On trouve aussi que les tanins sont sécrétés par des cellules spéciales appelés cellules sécrétrices ou «cellule a tanin ».[5].

2- 2- Origine biosynthétique :

A- Tanins condensés :

Ces composés sont issus des flavonoïdes, ils sont formés par hydroxylation en 3 d'une flavanone.

Les 2,3- dihydroflavon –3- ols formes sont ensuite réduits en flavan-3,4-diols, puis en fla van –3- ols par un mécanisme inconnu [2].

B- tanins hydrolysables :

Le penta-ester (le 1,2,3,4,6- penta –0- galloyl-β-D-glucose) occupe une place centrale dans le métabolisme des tanins hydrolysables [2].

C- Tanins galliques :

L'acide gallique est issu du métabolisme de l'acide shikimique, la glucosylation de l'acide gallique donne le monogalloylglucose, qui s'estérifier jusqu'au pentagalloylglucose [2].

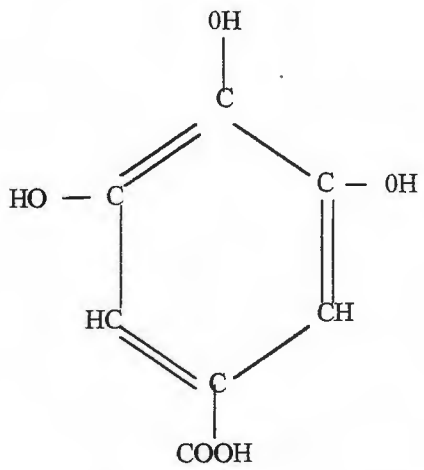
D- Tanins éllagiques :

Le couplage oxydatif c-2-c-2`, des groupes galloyle de la molécule engendre un motif héxahydroxybiphénylique, dicarboxylique [2].

2- 3-Nature chimique des tanins :

Elle est assez variable, ce sont des composés aromatiques à nombreuses fonctions phénoliques. Les plus simples sont les gallotanins et, en particulier, l'acide digallique de la noix de galle qui est formé par condensation de deux molécules d'acide gallique.

Deux acides galliques se combinent par des liaisons acide – phénol pour donner l'acide digallique.



- Acide gallique -

$$(HO)_3 \equiv H_2C_8 - \underbrace{CO - O}_{\text{liaison}} - C_6H_2 = (OH)_2$$

premier reste d'acide gallique — liaison acide phénol — COOH deuxième reste d'acide gallique

Par distillation sèche ou par fusion alcaline, les tanins libèrent d'autres corps phénoliques tels-que le pyrocatechol (le tanins pyrogallique, dont le tanin officinal est le type) et l'acide protocatéchol (tanins pyrocatéchiques: noix de cola, écorce de quinquina, etc).[3].

2- 4- Répartition systématique et localisation du tanin :

Les tanins se rencontrent dans la plupart des plantes mais souvent en très faible quantité, par fois même a l'état de traces. Cependant certaines espèces accumulent, dans certains de leurs organes, des tanins en très grande quantité.

Des tanins sont également extraits de l'écorce de certains chênes (*Quercus montana*, 6 a 10% du poid sec) .

Les tanins sont souvent localisés dans des cellules spéciales ou odoblastes tannifères disséminés dans le parenchyme [3].

2- 5-Propriétés biologique de tanin :

Les tanins sont caractérisés par plusieurs propriétés parmi elles :

- Pouvoir complexant avec les macromolécules, en particulier les protéines (enzymes digestives, protéines fongiques ou virales).
- Effet astringent, vasoconstricteur et protecteur.
- Propriétés antiseptiques, antibactérienne et antifongiques.
- Activité anti-oxydante et inhibitrice enzymatique.
- Solubilité dans l'eau et l'acétone.
- Réaction avec les sels ferriques; obtention de précipité coloré: tanins hydrolysables (bleu, noir), tanins condensés (brun, verdâtre).
- Coloration rose qui vire au pourpre puis au bleu des tanins éllagiques avec l'acide nitreux en milieu acétique [2].

2-6- Formation de tanin :

Les voies de la biosynthèse des tanins sont très mal connues. On sait seulement qu'elle exige des sucres :

- Dans les germinations, les tanins apparaissent quand les glucides sont Utilisés.
- Lorsque des feuilles isolées sont placées a l'obscurité ou a la lumière en atmosphère sans Co_2, les tanins n'apparaissent pas, par contre, ils se forment si le pétiole plonge dans une solution sucrée [3].

2-7- Action des tanins :

Les tanins ont l'aptitude de se combiner aux macromolécules, et cette aptitude explique qu'ils précipitent la cellulose, les protéines, les pectines. Elle explique également leur astringence; cette âpreté caractéristique: en précipitant les glucoproteines que contient la salive, les tanins font perdre à celle –ci son pouvoir lubrifiant [4].

2- 8- Extraction :

Après prélèvement, l'écorce est broyée au broyeur et est mise a macérer pendant 24 heures dans différents solvants, tels que l'eau, l'éthanol ou d'éthyle acétate. Certains extraits aqueux, ont été autoclavés afin de tester la persistance du pouvoir inhibiteur a la chaleur [8].

Un rendement optimal est obtenue avec les tissus frais ou conservés par congélation ou lyophilisation car, dans les drogues sèches, une partie des tanins est irréversiblement combinée à d'autres polymères [4].

3- Généralité sur les antibiotiques :

- Définition des antibiotiques :

Les agents thérapeutiques tuent les microorganismes pathogènes en inhibant leur développement à des concentrations suffisamment faibles pour éviter d'occasionner des dommages chez l'hôte. La plupart de ces agents sont des antibiotiques. Cette notion même a évolué dans le temps, elle fut réservée dans un premier temps à des molécules d'origine microbienne pour s'élargir par la suite du fait de l'évolution de la technologie biologique. On peut considérer les antibiotiques comme des agents antibactériens à action spécifique, qui inhibent la croissance ou détruisent les bactéries [7].

MATERIEL ET METHODES

II- Matériels et Méthodes:

1- L'objectif :

L'activité de l'extrait de l'écorce de chêne-liège a été testé sur différentes souches bactériennes, et pour cela, on a suivi les étapes suivantes:

- Préparation de l'extrait.
- préparation des souches bactériennes .
- l'évaluation de l'activité antibactérienne .

2- Préparation de l'extrait :

L'écorce de chêne-liége étudiée a été récoltée de la région de Jijel et prélevée de la face intérieur du liège.

L'extraction a été faite suivant les étapes suivantes:

2-1-Préparation de l'extrait à partir de l'écorce naturelle :

Broyage de l'écorce a l'aide d'un mortier jusqu'à obtention d'une poudre.

* 1ere préparation :

50mg de la poudre obtenue est dissoute dans 700 ml d'eau distillée.

*2eme Préparation :

50mg de la poudre obtenue est dissoute dans 700ml de méthanol.

Des suspensions sont laissées 2 a 3 semaines pour la solubilisation du tanin dans ces solvants.

2-2- Préparation de l'extrait à partir des résidus résineux :

On prépare 6 solutions contenant chacune 50mg de résidus résineux. La 1^{ére} préparation recevra 50 ml d'eau distillée et les 5 autres préparations recevrons successivement 50 ml des solvants:

- Ether de pétrole.
- Butanol.
- Ethyle acétate.
- Acétone.
- Méthanol.

Les suspensions sont laissées 2 a 3 jours pour la solubilisation du tanin dans les différents solvants.

- Les résultats de la solubilisation:

- L'eau distillée: pas de solubilisation (-).
- Ether de pétrole: pas de solubilisation (-).
- Butanol: solubilisation (+).
- Ethyle acétate: solubilisation (+).
- Acétone: solubilisation (+).
- Méthanol: solubilisation (+).

Nous n'avons utilisé que les préparations où on a obtenue une solubilisation. Pour les deux extraits on a réalisé les étapes suivantes:

- Filtration sur papier filtre .
- Evaporation dans l'étuve a 150°c.
- Après obtention d'une pâte on fait la dilution avec l'eau distillée stérile.

3- Préparation des souches :

Les souches utilisées afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'extrait de l'écorce de chêne-liège (tanin) proviennent du laboratoire d'hygiène de jijel.

Ce sont des souches prélevées de différents produits pathologiques (Selles, urines, pus, sang, prélèvement vaginal ....etc.).

Nous avons testés :

- 05 souches de *Pseudomonas*.
- 05 souches *d'Escherishia coli*.
- 04 souches de *Staphylococcus*.
- 01 souche de *Klebsiella*.
- 01 souche *d'Enterobacte* .
- 01 souche de *Proteus*.

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المكتبة
مركز الجامعي

Le total des souches testées est de 17 souches.

4- Evaluation de l'activité antibactérienne :

4-1- Test de diffusion (méthode des disques) :

A- Principe :

Si une bactérie pathogène aérobie ou facultative, à développement rapide comme *Staphylococcus* ou *Pseudmonas* est testée, on peut gagner du temps et épargner du milieu en utilisant une technique de diffusion mettant en ouvre les disques.

Lorsque un disque imprégné d'antibiotique est placé sur une gélose préalablement inoculée avec la souche testée, il s'humidifié et l'antibiotique diffuse radialement du disque dans la gélose, en formant ainsi un gradient de concentration.

B- Préparation des disques :

Le papier Wattman est découpé en disques de 6 mm de diamètre.
Les disques, après stérilisation à l'autoclave sont plongés chacun dans un extrait après la dilution de ces derniers (1 ml de l'extrait dans 10 ml de l'eau distillée stérile).

Les disques imprégnés des substances préparées, sont séchés à l'air libre.

C- l'antibiogramme :

L'antibiogramme consiste à évaluer l'antibiotique vis-à-vis des traitements possibles chez un patient, d'où son intérêt en milieu médical.

* Technique d'antibiogramme :

- Couler la gélose Muller-Hinton et la gélose nutritive chacun sur les boites de pétri et laisser refroidir 30 minutes à la température de laboratoire avant l'emploi.

- Préparation d'une suspension de chaque souche en eau distillée stérile (L'inoculum).

- Ensemencer chaque boite de Muller- Hinton et de gélose nutritive avec la souche à tester par la méthode d'irondation, de telle sorte que toute la surface de la gélose soit ensemencée de manière homogène.

- Les disques imprégnés de l'extrait sont déposés sur la surface de la Gélose ensemencée.

- Les boites ainsi préparées sont laissées 3 minutes sur la paillasse pour la diffusion des substances.

-Incubation à 37° pendant 24h

4-2- Test de dilution sur milieu solide :

- On prépare la dilution de l'extrait (1 ml de l'extrait + 10 ml de l'eau distillée stérile).
- Dans chaque boite on met 1 ml de la dilution préparée.
- On coule la gélose nutritive dans chaque boite et remuer jusqu'à obtention d'une gélose homogène.
- On laisse la gélose refroidir, puis on ensemence dans chaque boite la souche a tester.
- Incubation à 37° c pendant 24 heures.

RESULTATS

III- Résultats :

1- Test de diffusion : (utilise l'extrait sans dilution sur gélose nutritive) :

* Les résultats obtenus à l'issue du test de diffusion avec l'extrait de l'écorce de chêne–liége sur les différentes souches sont représentées dans les tableaux (I, II, III) :

Tableau I : Activité de l'extrait sur les souches *d'Escherichia coli* par le test de diffusion.

	L'extrait des résidus résineux				Extraite de l'écorce naturelle
Extraits / Souches	Méthanol	Butanol	Ethyl acétate	Acétone	Eau distillée
E.coli S_1	-	7mm	-	7mm	-
E.coli S_2	-	-	-	-	-
E.coli S_3	8mm	-	-	-	-
E.coli S_4	7mm	7mm	-	-	-
E.coli S_5	-	-	-	-	-

(-) : Absence de l'activité de l'extrait.

On note une légère activité de l'extrait sur les souches (1) et (4) d'*E.coli* avec un diamètre respective de 7mm pour le Butanol, Acétone et Méthanol, il est de 8mm pour le Méthanol avec la souche (3).

L'extrait ne montre aucune activité sur les souches (2) et (5) d' *E.coli* pour touts les solvants.

Tableau II : Activité de l'extrait sur les souches de *Pseudomonas* par le test de diffusion.

	L'extrait des résidus résineux				L'extrait de l'écorce naturelle
Solvants / souches	Méthanol	Butanol	Ethyl acétate	Acétone	Eau distillée
Pseudomonas aérogénosa S_1	10 mm	-	-	-	-
Pseudomonas S_2	-	-	-	-	-
Pseudomonas S_3	-	-	-	-	-
Pseudomonas S_4	-	-	-	-	-
Pseudomonas S_5	-	-	-	-	-

L'extrait a une activité sur la souche (1) de *Pseudomonas aérogénosa* avec un diamètre de 10mm pour le méthanol, et ne montre aucune activité sur les souches (2), (3), (4) et (5) pour touts les solvants .

Tableau III : Activité de l'extrait sur les souches de *Staphylococcus* par le test de diffusion.

	L'extrait des résidus résineux				L'extrait de l'ecorce naturelle
Solvants / souches	Méthanol	Butanol	Ethyl acétate	Acétone	Eau distillée
Staphylococcus S_1	9 mm	7 mm	-	-	7 mm
Staphylococcus S_2	10 mm	8 mm	-	8 mm	-
Staphylococcus S_3	7 mm	7 mm	-	7 mm	7 mm
Staphylococcus S_4	9mm	7 mm	-	8 mm	8 mm

On remarque une légère activité de l'extrait sur la souche (1) de *Staphylococcus* avec un diamètre de 9 mm et 7 mm respectivement pour le méthanol, le Butanol et l'extrait de l'écorce naturelle, ce dernier donne aussi un effet secondaire sur la souche (3) avec un diamètre respective de 7mm, le même résultat observer pour le Méthanol, le Butanol et l'Acétone.

L'extrait a aussi une activité sur la souche (2); le diamètre est varie entre 10mm Pour le méthanol, et 8mm pour le Butanol et l'Acétone, on observe aussi ce

résultat chez la souche (4) qui présente une sensibilité à l'extrait dans le Méthanol (diamètre égale a 9mm), et le Butanol (diamètre égale a7mm), et un diamètre égale a 8mm pour l'acétone et l'extrait de l'écorce naturelle.

On marque que l'extrait dans l'ethyl acétate ne montre aucune activité sur toutes les souches de *Staphylococcus* .

2-<u>Test de diffusion</u> : utilise l'extrait avec dilution (1ml + 10ml) sur milieu Muller – Hinton :

Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux (IV,V,VI) .

<u>Tableau IV</u> : Activité de l'extrait sur les souches *d'Escherichia coli* .

	L'extrait des résidus résineux				L'extrait de l'écorce naturelle	Antibiotiques		
Solvants / souches	Méthan-ol	Butanol	Ethyl acétate	Acétone	Eau distillée	Amoxi-cilline	Cefoxi-tine	Imipé-nem
Escherichia coli S_2	14 mm	-	-	-	-	-	-	11mm
Escherichia coli S_3	-	-	-	-	-	-	-	23mm
Escherichia coli S_4	-	-	-	-	-	-	-	20mm
Escherichia coli S_5	-	-	-	-	-	-	-	24mm

L'extrait dans le Méthanol a une activité considérable sur la souche (2) d'*Escherichia coli* avec un diamètre de 14mm, mais pour les autres solvants; l'extrait ne montre aucun effet sur toutes les souches d'*Escherichia coli*.

Tableau V : Activité de l'extrait sur les souches de *Pseudomonas* .

	L'extrait des résidus résineux				L'extrait de l'écorce naturelle	Antibiotiques		
Solvants / souches	Méthanol	Butanol	Ethyl acétate	Acétone	Eau distillée	Amoxi-cilline	Cefoxi-tine	Imip-énem
Pseudomonas aérogénosa S_1	11 mm	-	-	-	-	-	-	24mm
Pseudomonas S_2	-	-	-	-	-	-	-	23mm
Pseudomonas S_3	-	-	-	-	-	-	-	22mm
Pseudomonas S_4	-	-	-	-	-	-	-	18mm

La souche (1) de *Pseudomonas aérogénosa* présente une sensibilité avec un diamètre de 11mm pour l'extrait en Méthanol .

L'extrait dans les autres solvants ne montre aucune activité sur toutes les souches de *Pseudomonas*.

Tableau VI: Activité de l'extrait sur les souches de *Staphylococcus* par le test de diffusion.

	L'extrait des résidus résineux				L'extrait de l'ecorce naturelle	Antibiotiques		
Solvants / souches	Méthanol	Butanol	Ethyl acétate	Acétone	Eau distillée	Amoxi-cilline	Cefoxi -tine	Imip-énem
Staphylococcus S_1	12 mm	-	-	-	-	-	-	40mm
Staphylococcus S_2	10 mm	-	-	-	-	-	17 mm	30mm
Staphylococcus S_3	8 mm	-	10mm		-	-	-	30mm

L'extrait dans le Méthanol à une activité sur les souches (1), (2) et (3) de *Staphylococcus* avec un diamètre respective de 12mm ,10 mm et 8 mm, cette activité est de 10mm avec la souche (3) pour l'Ethyl acétate .

L'extrait dans les autres solvants n'a aucune activité sur toutes les souches de *Staphylococcus*.

Tableau VII : Activité de l'extrait sur la souche de *Klebsiella, Enterobacter*, et *Proteus*.

	L'extrait des résidus résineux				L'extrait de l'écorce naturelle	Antibiotiques		
Solvants / souches	Méthanol	Butanol	Ethyl acétate	Acétone	Eau distillée	Amoxi-cilline	Cefoxi-tine	Imip-énem
Klebsiella	-	-	-	-	-	-	-	21mm
Enterobacter	-	-	-	-	-	-	-	16mm
Proteus	-	-	-	-	-	-	-	20mm

L'extrait préparé dans le Méthanol, Butanol , Acétone et l'Ethyle acétate ne montre aucune activité sur la souche de *Klebsiella, Enterobacter* et *Proteus* .

3- Test de dilution sur milieu solide :

Les résultats obtenus à l'issue du test de dilution sur milieu solide de l'extrait de l'écorce de chêne – liège sur les différentes souches bactériennes sont résumés dans les tableaux (VIII, IX, X) .

Tableau VIII : Activité de l'extrait de l'écorce naturelle en eau distillée sur différentes souches bactériennes.

Les souches	*Staphylococcus* S_1	*Esherichia coli* S_1	*Esherichia coli* S_2	*Psendomonas* S2	*Enterobacter*	*Proteus*
L'extriat	-	-	-	-	-	-

(-) : Absence de l'activité de l'extrait .

L'extrait n'a aucune activité sur la souche de *Staphylococcus* (S_1), *Escherichia coli* (S_1 , S_2), *Pseudomonas* (S_2), *Enterobacter* et *Proteus* , on observe une pousse dans toutes les boites de pétri ensemencées.

Tableau IX: Activité de l'extrait des résidus résineux préparé dans le Méthanol sur la souche de *Staphylococcus* , *Escherichia coli* , *Proteus*.

Les souches	*Staphylococcus* S_2	*Escherichia coli* S_2	*Proteus*
L'extrait	-	-	-

Staphylococcus, *Escherichia coli* et *Proteus* ne présente aucune sensibilité vis-à-vis de l'extrait.

Tableau X : Activité de l'extrait des résidus préparés dans l'acétone.

Les souches	*Escherichia coli* S_2	*Staphylococcus* S_2	*Enterobacter*
L'extrait	-	-	-

L'extrait préparé dans l'acétone ne montre aucune activité sur la souche d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus* et d'*Enterobacter*.

DISCUSSION

IV- Discussion :

Les essais des chercheurs dans la découverte de nouvelles substances actives sont importantes, comme par exemple les substances antibactériennes.

Dans notre étude, on a évalué l'activité antibactérienne de l'extrait de l'écorce de chêne-liège avant de déterminer ensuite les souches qui en sont sensibles.

Au cours de cette étude, des variations de l'activité antibactérienne ont été observées.

Nous avons utilisé dans notre étude deux testes (test de diffusion et test de dilution sur milieu solide).

Les résultats de notre étude ont montré une légère activité antibactérienne sur quelques souches bactériennes (*Staphylococcus, Pseudomonas aérogénosa, Escherichia coli*).

L'utilisation de l'extrait sans dilution par le test de diffusion montre une légère activité sur les souches de *Staphylococcus* avec un diamètre de 7mm et 10mm.

Mais l'utilisation de l'extrait dilué donne une activité moyenne avec un diamètre compris entre 8 et 12mm.

Les deux formes de l'extrait (dilué et non dilué) donnent une activité sur la souche de *Pseudomonas* avec le test de diffusion avec un diamètre respectivement de 10mm et 11mm.

Pour *Escherichia coli* on a obtenu un diamètre compris entre 7 et 8mm avec l'extrait sans dilution par le test de diffusion, ce même test donne une importante activité sur *Escherichia coli* avec un diamètre de 14mm avec l'extrait dilué.

Toutes les formes de l'extrait ne donnent aucune activité sur la souche de *Klebsiella, Enterobacter* et *Proteus*.

Le test de dilution sur milieu solide donne un résultat négatif sur toutes les souches (*Escherchia coli, Pseudomonas, Staphylococcus, Proteus, Enterobacter et Klebsiella*).

CONCLUSION

Conclusion :

Au 20^{éme} siècle , l'essore de la chimie et de la biologie ont permis d'extraire, puis de fabriquer artificiellement les principes actifs présents dans les plantes. Peu a Peu, l'utilisation des extraits est devenue marginale [6], et son utilisation dans la préparation des antibiotiques est rare.

Notre étude consiste à étudier l'activité et l'efficacité de l'écorce du chêne-liège sur différentes souches bactériennes (*Staphylococcus, Pseudomonas, Escherichia coli, Proteus, Klebsiella et Enterbacter*).

Nos résultats ont montré une sensibilité des souches du *Staphylococcus*, du *Pseudomonas*, et du *Escherichia coli* vis à vis de l'extrait, mais la souche d'*Enterobacter, du Klebsiella* , et du *Proteus*, n'ont montré aucune sensibilité vis-à-vis de l'extrait.

Pour une meilleure évaluation de l'activité antibactérienne du tanin, nous proposons d'améliorer les techniques d'extraction et d'utiliser d'autres solvants, pour cela on laisse la porte ouverte pour d'autres essais.

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographique :

1- **AIACHE. J-M** : manuel du préparateur en pharmacie: l'usage d'élèves préparateurs, étudiants en pharmacie et maîtres d'apprentissage, 11eme édition (1990).

2- **Belkhhiri.A et Ph-D** : pharmacognosie: Résumé du cours, schemins et formules (2001). P : 116-119.

3- **Binet .P et Brunel .J.P**: physiologie végétale (Tome II). P : 785, 786.

4- **Bruneton Jean**: pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales. 2eme édition (1993).P : 314, 323.

5- **Camefort-H**: Morphologie des végétaux vasculaires: cytologie –anatomie-adaptation. 2ème édition. P : 123, 124.

6- **Dupagne .D et All**:VIDAL de la famille (le dictionnaire des médicaments) (2000).

7- **Eberlin Thierry**: les antibiotiques; classification, mode d'action, utilisation, thérapeutique. édition Nathan, (1994).

8- **Michel Marie-France**: note préliminaire sur la présence de substances antibiotiques chez quelques essences forestières. (1976). P: 152.

9- **Sedira-A, Chaib.T** : Contribution a l'étude de la régénération naturelle du chêne-liège. (1982).

10- **Veuve Braham** : Introduction sur les travaux d'exploitation dans les forets du chêne-liège. (1927). P: 4-6.

SITES INTERNET:

11- WWW.aliécor.com.

12- WWW.lot.et.garonne.Fr/htm/Musseemozin/foret/production.htm

13-WWW.Fao.org/docrep/x1880F/x1880f08htm.

14- WWW.cybercantal.org/école.pleaux /cycle3/page12.htm

ANNEXE 1

Composition des milieux utilisés :

- Milieu de gélose nutritive :

1- Extrait de viande de bœuf	1g
2- Extrait de levure	2g
3- Peptone	5g
4- Chlorure de sodium	5g
5- Gélose	15g

- Milieu Muller-Hinton

1- Infusion de viande de bœuf	300g
2- Hydrolysate de coseines	75,5g
3- Amudon	1,5 g
4-Gélose	10g

ANNEXE 2 :

- Les réactifs utilisés dans le protocole d'extraction des Tanins sont les suivants :

1- Méthanol
2- Acétone
3- Butanol
4- Ethyle acétate
5- `Ether de pétrole
6- Eau distillée

Thème :

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

Nom & prénom des étudiantes :	Date de soutenance :
- ZEMMOURI Amel - RAS EL AIN Hassina - REZAIKI Soria	/ 09/ 2002

ملخص :

العديد من البحوث العلمية أثبتت إحتواء النباتات على مواد بيوفعالة تستعمل لمعالجة حالات مرضية أو تستعمل في صنع الأدوية .

و من بين هذه النباتات شجرة البلوط ، و هي من النباتات الراقية التي تحتوي على الصمغ (الريزين) الذي له فوائد جمة إقتصادية كدباغة الجلود ، و طبية حيث تستعمل كمضاد حيوي.

في دراستنا هذه قمنا بتقييم النشاط ضد البكتيري لمستخلص قشرة شجرة البلوط على العديد من الأنواع البكتيرية باستعمال اختبارين : اختبار الانتشار و اختبار التخفيف.

و النتائج المتحصل عليها بينت أن المستخلص له تأثير على بعض الأنواع البكتيرية التالية :

Escherichia coli, Pseudomonas, Staphylococcus

Résumé :

De nombreux recherches scientifiques montrent que les plantes contiennent des substances bioactives utilisées comme agent curatif dans des cas pathologiques ou dans la production des antibiotiques.

Parmi ces plantes : le chêne –liège qui est une plante supérieure contenant le tanin (résine) qu'a plusieurs avantages économiques comme le tannage du cuir, ou médicaux comme antibiotique .

Dans notre étude l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait de l'écorce de chêne-liège vis-à-vis des différentes souches bactériennes a été réalisée par deux tests: test de diffusion et test de dilution sur milieu solide .

Les résultats les plus significatifs ont montré que l'extrait a une activité sur *Staphylococcus, Pseudomonas* et *Escherichia coli.*

Summary:

Many scientific research shows that the plants contain bioactive substances used as curative agent in pathological cases or the production of antibiotics.

Among these plants: the cork oak which is a higher plant containing the tanin (resin) with several advantages economic like the tanning of leather, or medical like antibiotic.

In our study the evaluation of the activity anti bacterial of the extract of the bark of cork oak with respect to the various bacterial stocks was realized by two tests: test of diffusion and test of dilution on solid medium.

The most significant results showed that extract has an activity on *Staphylococcus, Pseudomonas* and *Escherichia coli.*

Les mots clé : Substances bioactives, Antibiotiques, Chêne liège, Tanin, Tannage de cuir, Extrait de l'écorce, Activité antibactérienne.