

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'enseignement supérieure et de la recherche scientifique
Centre universitaire Abdelhak ben Hammouda –Jijel-
Institut des sciences de la nature

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme d'études supérieures en biologie

Option : Microbiologie

THEME

*La détermination de la CMI et de la CMB d'un
extrait de Ranunculus repens
vis-à-vis des Staphylocoques coagulase-négatifs*

Membres du jury :

- Président :BOUDJARDA Djamel
- Examineur : IDOUI Tayeb
- Encadreur :ROULA Sadja

Réalisé par :

- BENCHOUIEB Nadjjet
- MANAA Wafa
- SICHE Sahima



Année universitaire 2002 -2003

Remerciements

- * Nous tenons en premier lieu à remercier notre encadreur Mme ROULA SADJIA, pour nous avoir dirigé dans l'élaboration de ce travail, pour sa confiance, sa disponibilité et sa compréhension, tout en lui exprimant nos profonds respects.*
- * Les membres du jury : Mr BOUDJARDA DJAMEL, Mr IDOUI TAYEB, pour nous avoir honoré en acceptant de juger ce modeste travail.*
- * Tous les enseignants du département de biologie.*
- * les techniciens du laboratoire de biologie du centre universitaire de Jijel, en particulier SONIA.*
- * En fin nous remercions tous les amis et toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail*

SOMMAIRE :

Introduction

| | |
|--|----|
| I- Analyse bibliographique | 1 |
| I-1 Phytothérapie : les plantes de la médecine | 1 |
| I-1-1- Les différentes formes d'utilisation des plantes en phytothérapie..... | 1 |
| a- Les formes d'utilisation traditionnelles toujours en usage | 1 |
| b- les formes d'utilisation actuelles les plus courantes..... | 1 |
| c- Les formes d'utilisation actuelles les moins courantes | 2 |
| I-2- Renonculacées à proto-anémone : les renoncules | 2 |
| I-2-1- familles des renonculacées..... | 2 |
| I-2-2- Les renoncules | 2 |
| a -Toxicité des renoncules | 3 |
| b- Classification | 3 |
| <i>b₁ Ramunculus repens</i> | 3 |
| <i>b₂</i> - systématique..... | 4 |
| c - Principes actifs | 4 |
| I-3- Les infections bactériennes | 5 |
| I-3-1- Les staphylocoques | 5 |
| a-Classification | 5 |
| b- Habitat | 5 |
| c- Etude bactériologique | 5 |
| I-3-2- Les staphylocoques coagulase-négatifs(SCN) | 6 |
| a-Habitat | 6 |
| b- Pouvoir pathogène | 7 |
| c- Les facteurs hôtes stimulants le pouvoir pathogène des staphylocoque coagulase-négatifs (SCN)..... | 7 |
| d-Les symptômes cliniques habituels associés à une infection à staphylocoque coagulase-négatif..... | 8 |
| e- Sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques | 8 |
| I-4- Les agents antibactériens | 8 |
| I-4-1- Les antibiotiques | 9 |
| I-4-2- Classification des antibiotiques | 9 |
| a- But de la classification | 9 |
| b- Critères de classification | 9 |
| I-4-3- Les effets des antibiotiques sur les bactéries | 11 |
| a- Effet bactériostatique (bactériostase) | 11 |
| b- Effet bactéricide (bactéricidie)..... | 11 |
| c- CMI et CMB..... | 11 |
| I-4-4- Principaux antibiotiques actifs sur les staphylocoques..... | 12 |
| II-Matériel et méthodes | 13 |
| II-I-Matériel | 13 |
| II-2- Méthodes | 14 |
| II-2-1- Prélèvements des échantillons | 14 |
| II-2-2- Isolement des souches bactériennes | 14 |
| II-2-3- Examen direct : coloration de Gram..... | 15 |
| II-2-4- Identification..... | 15 |

| | |
|--|----|
| II-2-5-Préparation de l'extrait brut de la plante sèche <i>Ranunculus repens</i> | 15 |
| II-2-6- Préparation des dilutions de l'extrait de la plante <i>Ranunculus repens</i> | 18 |
| II-2-7- Evaluation de l'activité anti-staphylocoques coagulase-négatifs..... | 18 |
| II-2-7-1- Préparation de l'inoculum et ensemencement | 18 |
| a-Test de l'antibiogramme : méthode des disques..... | 18 |
| b- Méthode de diffusion en gélose (méthode des puits) | 19 |
| II-2-7-2- Incubation | 19 |
| II-2-8- Détermination de la CMB par la méthode de dilution en milieu liquide | 19 |
| III-Résultats et interprétation | 20 |
| III-1-Evaluation de l'activité anti-staphylocoques coagulase-négatifs d'un extrait de <i>Ranunculus repens</i> par le test de l'antibiogramme (méthode des disques).. | 20 |
| III-2-Détermination de la CMI par la méthode de diffusion en gélose (méthode des puits)..... | 21 |
| III-3- Détermination de la CMB par la méthode de dilution en milieu liquide..... | 27 |
| IV-Analyse statistique | 28 |
| IV-1-Analyse de la variance pour les souches isolées des différents prélèvements.. | 28 |
| IV-1-1- Analyse de la variance pour les souches isolées du sperme..... | 28 |
| IV-1-2- Analyse de la variance pour les souches isolées des prélèvements vaginaux..... | 28 |
| IV-1-3- Analyse de la variance pour les souches isolées des urines..... | 28 |
| IV-1-4- Analyse de la variance pour les souches isolées du pus..... | 29 |
| IV-2-Résultats de l'analyse statistiques..... | 29 |
| IV-2-1-Souches isolées du sperme..... | 29 |
| a-Effet dose..... | 29 |
| b-Effet souche..... | 29 |
| IV-2-2-Souches isolées des prélèvements vaginaux..... | 29 |
| a-Effet dose..... | 29 |
| b-Effet souche..... | 30 |
| IV-2-3-Souches isolées des urines..... | 30 |
| a-Effet dose..... | 30 |
| b-Effet souche..... | 30 |
| IV-2-4-Souches isolées du pus..... | 30 |
| a-Effet dose..... | 30 |
| b-Effet souche..... | 30 |
| Interprétation | 31 |
| Conclusion | 33 |
| Références bibliographiques. | |

Glossaire

Annexe 1 .

Annexe 2 .

Introduction

Introduction :

L'histoire officielle de la phytothérapie prend ses racines il y a plusieurs millénaires et l'on en retrouve la trace dans à peu près toutes les civilisations, sur les cinq continents .

Les témoignages retrouvés çà et là sur des parois rocheuses ,des bas reliefs de son environnement, des poteries en terre cuite, sont la preuve que l'homme s'est toujours intéressé aux plantes, qui ont constitué pour lui une source de nourriture (plantes comestibles ou poisons pour la chasse), voir un moyen de guérir ses maladies (plantes médicinales) [10].

Des milliers de plantes, sont des sources encore peu exploitées de substances plus actives. 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 creusé pour la découverte de nouveaux médicaments.

C'est dans ce cadre que se situe notre travail. Ce dernier porte sur la plante *Ranunculus repens* qui est une plante des zones humides et très commune des monts de TEXANNA dans la wilaya de Jijel.

Des études précédentes ont démontré une sensibilité des espèces appartenant aux staphylocoques coagulase- négatifs à l'extrait brut de la plante.

L'objectif principal de notre étude est d'approfondir les études précédentes. Nous proposons la détermination in-vitro des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides (CMB) de l'extrait brut de la plante sèche sur des espèces de staphylocoques coagulase-négatifs isolées de différents produits pathologiques (sperme, prélèvements vaginaux, pus et urines).

Première partie

Analyse

bibliographique

I- Analyse bibliographique

I-1 Phytothérapie : les plantes de la médecine .

La phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes ou la seule « partie active » de ces plantes ayant des propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont appelées « plantes médicinales » [13].

I-1-1- Les différentes formes d'utilisation des plantes en phytothérapie.

Il existe de nombreuses façons d'utiliser les plantes en phytothérapie selon le trouble ou l'affection à traiter, ses caractéristiques (forme aiguë ou chronique), l'âge et le tempérament du patient, etc. Toutes choses qui impliquent d'abord un diagnostic médical préalable précis, et ensuite les conseils ou la prescription d'un « homme de l'art » : médecin, Phytothérapeute, pharmacien- herboriste, ou herboriste mais parfaitement qualifié[11].

a- Les formes d'utilisation traditionnelles toujours en usage :

- l'infusion : c'est la « bonne vieille tisane ». la plante est mise en contact avec de l'eau portée à ébullition. Les principes actifs ainsi extraits et dissous, sont beaucoup mieux assimilés par l'organisme[13].
- La décoction : méthode dans laquelle la plante est mise en contact avec l'eau maintenue à ébullition [13].
- la macération : méthode dans laquelle les parties de la plante sont trempées à froid dans un liquide adéquat (généralement : alcool, vin ou huiles) pendant le temps voulu. Le jus restant dans les parties de plante est exprimé à travers un linge [13].
- Le cataplasme : la préparation à base de plante indiquée (fraîche ou préparée de façon particulière) est appliquée localement sur la peau au niveau de la partie à traiter [11].

b- Les formes d'utilisation actuelles les plus courantes :[11]

- la poudre totale micronisée (souvent cryobroyée) en gélule.
- Les suspensions intégrales de plantes fraîches en flacon- doses.
- Les jus issus de légumes, de fruits, ou de plantes, à l'état pressés à froid immédiatement après cueillette.
- Les extraits secs (souvent sous forme de nébulisat) en gélules.
- Les extraits liquides (ou fluides).
- Les extraits mous, obtenus par évaporation d'un extrait liquide jusqu'à la consistante voulue.
- Les extraits hydro-glycoliques.
- Les teintures alcooliques (obtenues par l'action de l'alcool éthylique de 60 à 90° sur des plantes sèches), et les alcoolatures (obtenues par action du même alcool mais sur des plantes fraîches).
- Les essences ou huiles essentielles en flacons, ou micro-encapsulées et tamponnées (S-CAP-T).

c- Les formes d'utilisation actuelles les moins courantes : [11]

- les alcoolats : obtenus par distillation des principes volatiles de plantes (ou partie de celles -ci) au contact d'alcool.
- Les élixirs, qui sont des mélanges d'alcoolats avec certains sirops.
- Les hydrolats (ou eaux distillées), obtenus par distillation des principes volatils de poudre végétale ou de partie de plante au contact de l'eau.
- Les intraits, obtenus par fixation des principes actifs de certaines plantes juste après la cueillette par des vapeurs d'eau chaude, suivie d'une évaporation donnant un produit extractif exploité sous le nom d'intrait.

I-2- Renonculacées à proto-anémone : les renoncules**I-2-1- familles des renonculacées : [20]**

La famille des renonculacées regroupe près de 1500 espèces, qui ont un port très différents et sont le plus souvent des végétaux herbacés vivaces. Elles sont répandues dans la zone tempérée ou froide de l'hémisphère nord, bien qu'il en existe dans les régions intertropicales et dans les zones tempérées de l'hémisphère austral.

- Leur racines sont fusiformes, parfois tuberculeuses ou rhizomateuses.
- Les feuilles à nervure généralement palmées, sont le plus fréquemment composées et ont habituellement une saveur âpre due aux différents principes actifs-souvent toxiques ou très toxiques-qu'elles contiennent. Chez les espèces aquatiques elles peuvent avoir une forme différente sur une même plante du fait de facteurs morphologiques ou écologiques : c'est ce que l'on appelle l'hétérophylie.
- Les feuilles apparaissent souvent après les fleurs ; ces dernières sont soit solitaires, soit réunies en inflorescence et parfois entourées de bractées formant calicules. Le calice est presque toujours composé de 5 sépales colorés et caducs, tandis que la corolle, quand elle existe, a 4 ou 5 pétales souvent nectarifères.
- Les fleurs hermaphrodites ont des étamines libres, en nombre indéfini, insérées sur le réceptacle ; les carpelles, fréquemment nombreux, supères, sont sessiles et chacun d'eux forme souvent un ovaire contenant une seule ovule.
- Le fruit est un akène ou un follicule, parfois une baie, une drupe ou une capsule .
- la famille comprend les aconites, les ancolies, les hellébore, les anémones, les clématites, les renoncules , etc. .

I-2-2- Les renoncules :

Renoncule ou bouton d'or, plante de la famille des renonculacées aux fleurs très simples, brillantes, jaune ou blanche en forme de coupe. Les espèces les plus courantes sont la renoncule âcre, la renoncule rampante et la renoncule bulbeuse, très fréquentes dans les prairies [26].

a -Toxicité des renoncules :

Renoncules, anémones , clématites et hellébore ont comme principe irritant un glucoside, la ranunculine. Par hydrolyse, cette molécule est dégradée en une lactone irritante, la proto -anémone, laquelle est par la suite inactivée du fait de sa dimérisation

spontanée en anémone, ce qui explique la relative innocuité des plantes sèches (fourrage) [6]. Fig(1)

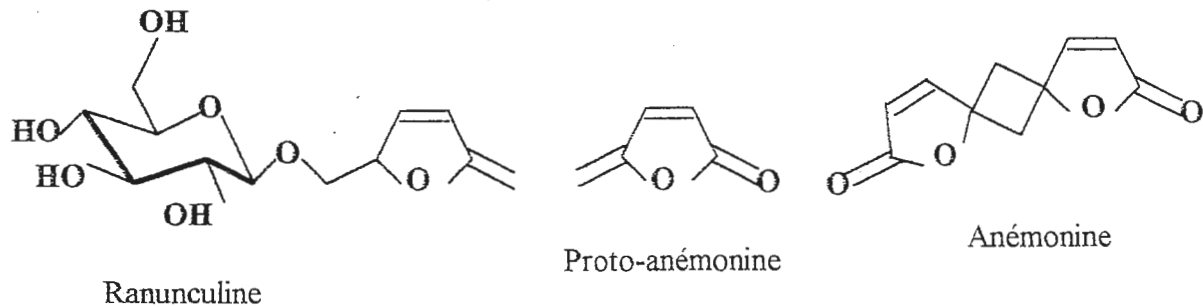


Figure 1 : structure chimique de la ranunculine, proto-anémone , anémone

La teneur en ranunculine varie selon les espèces : 0,12 mg/g chez *R. repens* 1,37 mg/g chez *R. acris*, 7,7 mg/g chez *R. bulbosus* (exprimé par rapport à la matière sèche).

Le contact avec ces diverses espèces se traduit par une irritation de la peau variant d'un érythème avec démangeaisons modérées à un œdème ou à un eczéma et à des cloques. L'ingestion peut induire une stomatite sévère avec enflures, brûlures et ulcérations [6].

b- Classification :

les renoncules appartiennent à la famille des Renonculacées de l'ordre des Ranales. La renoncule âcre, ou bouton d'or, a reçu le nom de *Ranunculus acris*, la renoncule bulbeuse celui de *R. bulbosus* et la renoncule rampante celui de *R. repens* [26].

Ranunculus repens. Fig (2) : [19]

Origine du nom : vulgare : lat , commun.

Altitude : jusqu'à plus de 2000m.

Taille : tige couchée de 10 à 50 cm.

Floraison : d'avril à septembre . toxique.

Cycle de vie : vivace , hivernant sous la forme d'une souche.

Toxicité : toxique à l'état frais.

Habitat : prairies, chemin des bois, près humides, bord des routes, sols piétinés, champs cultivés, en sol argileux, lourd.

Fleurs : fleurs jaunes, intenses, de 2 à 3 cm, à sépale étalés ou dressés ; pédoncule sillonné.

Feuilles : feuille à trois lobes dentés celui du milieu longuement pétiolé.

Tige : nombreuses tiges rampantes s'enracinant aux nœuds.

Reproduction : propagation par stolons.

Commentaire : un peu poilue.

Utilisations officinales : la plante contient des substances fortement émétiques.

Partie à utiliser : toute la plante.

b-2- Systématique : [19]

Phylum : Dicotylédone.

Famille : Ranunculaceae .

Ordre : Ranale ou polycarpique .

Subclasse : Renonculoïde .

Genre : *Ranunculus* .

Espèce : *Ranunculus repens* .

Nom arabe : Mergheris .

Nom commun : Renoncule rampante.

Synonyme du nom commun : bouton d'or, bassinet, pie pou, pied de poule.

Nom commun en anglais : Creeping buttercup.



Figure (2): *Ranunculus repens*

c- Principes actifs :

➤ **Les alcaloïdes :**

Se sont des substances toxiques et parfois à faibles doses et qui ont des effets thérapeutiques connus. C'est une substance organique azotée d'origine végétale, à caractère alcalin, de structure complexe. On trouve des alcaloïdes dans plusieurs familles de plante et on en connaît plus de mille [12]. Une trentaine d'alcaloïdes connus sont utilisés en médecine. Par exemple ; l'atropine, obtenue à partir de la belladone, provoque une dilatation des pupilles ; la morphine supprime la douleur ; la quinine est un remède contre le paludisme. Précisons, enfin que la nicotine est un insecticide puissant [26].

➤ **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes lacto-sensu sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles [5]. Structuralement , les flavonoïdes se répartissent en quinze famille de composés, dont les plus importantes sont les suivantes : flavones flavonols, flavanones, flavannonol , isoflavones, isoflavanones, chalcone aurones, anthocyanes [26].

Les plantes qui contiennent des flavonoïdes sont souvent liées à la fonction antispasmodique[26]. On a également signalé pour certains flavonoïdes des propriétés antibiotiques et antivirales [21].

I-3- Les infections bactériennes :

L'infection est définie comme la colonisation de l'organisme par un micro-organisme capable de lui causer une maladie. La maladie infectieuse résulte toujours de la rupture de l'équilibre du contrôle établi par les moyens de défense de l'hôte sur l'agent pathogène qui est la cause de la maladie [4].

Les maladies bactériennes peuvent être chroniques, comme la tuberculose, ou aiguës, comme l'intoxication alimentaire par le staphylocoque [9]. Elles s'expriment par des symptômes, dont les plus fréquents sont : des lésions de la peau ou des muqueuses l'inflammation, la fièvre, le pus et les décharges purulentes, le vomissement, la diarrhée la dysenterie, l'anorexie, la tuméfaction, la douleur[4].

I-3-1- Les staphylocoques :

* Généralités : [16]

a-Classification :

Section 12 du Bergey's Manual : cocci Gram positif.

Famille des micrococaceae , genre *Staphylococcus* ; 28 espèces dont :

- *Staphylococcus aureus* .
- *Staphylococcus epidermidis* .
- *Staphylococcus saprophyticus* .
- *Staphylococcus hominis*.

b- Habitat :

Germe ubiquitaire, commensal et opportuniste .

c- Etude bactériologique :

• morphologie :

Cocci Gram positif (regroupement en amas : grappes de raisin ou tétrades), Diamètre 1 micron, non capsulé, non sporulé .

• caractères cultureux :

- Aeroanaérobie facultatif, peu exigeant (gélose ordinaire), isolé sur milieu de Chapman (riche en Na cl).
- *Staphylococcus aureus* ; (staphylocoque doré) : colonies pigmentées jaune d'or .
- Staphylocoque coagulase-négatif : colonies non pigmentées, brillantes, crémeuses, blanches et de 1 2 mm de diamètre.

• caractères biochimiques :

Les caractères biochimiques des principales espèces de *Staphylococcus* isolées chez l'homme sont représentés dans le tableau (I).

Tableau (I): Caractères biochimiques des principales espèces de *Staphylococcus* isolé :s chez l'homme [7]

| | | <i>S.aureus</i> | <i>S.epidermidis</i> | <i>S.saprophyticus</i> | Autres staphylocoques |
|--|----------|-----------------|----------------------|------------------------|-----------------------|
| Coagulase | | + | - | - | - |
| Clumping factor | | + | - | - | - |
| Fermentation | glucose | + | + | - ou + lent | + |
| | Mannitol | + | - | + | V |
| | Xylitol | - | - | + | - |
| Phosphatase | | + | + | - | V |
| DNA se | | + | - | - | - |
| Novobiocine 5 mcg | | S | S | R | V |
| <div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; display: inline-block; margin-right: 5px;"></div> Réaction essentielle | | | | | |

V : variable

S : sensible

R : résistant

I-3-2- Les staphylocoques coagulase-négatifs(SCN) :

Les staphylocoques coagulase-négatifs ont longtemps été considérés comme de simples contaminants de prélèvements défectueux. Aujourd'hui il est clair qu'au moins deux espèces *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*, sont des bactéries opportunistes potentiellement pathogènes [1].

On les désigne sous le nom de « staphylocoques coagulase-négatifs (SCN) » car contrairement aux *Staphylococcus aureus* la plupart d'entre eux sont dépourvus de cette enzyme[11].

a-Habitat :

Les staphylocoques coagulase-négatifs représentent les principaux commensaux de la peau avec les corynébactéries et les propionibactéries. La densité de colonisation est plus importante au niveau des zones humides comme la partie antérieure des narines, le périnée les creux axillaires et les plis inguinaux . Ils peuvent aussi être isolés des muqueuses. *S.epidermidis* est l'espèce la plus fréquemment isolée. Ainsi *S.epidermidis* peut contaminer les prélèvements superficiels ou les prélèvements obtenus par ponction transcutanée comme les hémocultures[14].

b- Pouvoir pathogène :

Les staphylocoques coagulase-négatifs sont essentiellement responsables d'infections nosocomiales et iatrogènes[11].

➤ ***S. epidermidis* :**

Peut provoquer des infections chez les sujets porteurs de matériel étranger (catheter intra- vasculaire, prothèses ostéo-articulaires, boîtiers de stimulation cardiaque valves de dérivation du liquide céphalo-rachidien ...).

La production d'exopolysaccharides augmente sa capacité d'adhésion aux biomatériaux et va empêcher la pénétration des antibiotiques, rendant leur éradication difficile. *S.epidermidis* est aussi responsable de septicémie notamment dans les services d'oncologie et néonatalogie, de péritonites chez les patients en dialyse péritonéale d'endocardite surtout chez les sujets porteurs de prothèses valvulaires cardiaques d'infection sur valve de dérivation du liquide céphalo-rachidien. Plus rarement cette espèce est responsable d'infection sur prothèse orthopédique, de cystites et de pyélonéphrites [14].

➤ ***S. saprophyticus* :**

Responsable d'infection urinaire de la femme enceinte et en période d'activation génitale :13–20% des infections urinaires. Urétrites non gonococciques, prostatites [24]

➤ ***S. haemolyticus* et *S.hominis* : [24]**

- Isolés en milieu hospitalier, présents chez l'homme à l'état commensal.
- Responsable d'infections nosocomiales variées.

➤ ***S. lugdunensis* : [24]**

- Pathogène opportuniste.
- Infection sur prothèse valvulaire, cathéter, septicémies, abcès du cerveau ostéite, ostéo -arthrite.

c- Les facteurs hôtes stimulants le pouvoir pathogène des staphylocoques coagulase-négatifs (SCN) : [17]

Les staphylocoques coagulase-négatifs sont plus susceptibles d'être les causes véritables d'infection dans les situations suivantes :

- présence de corps étrangers à demeure ; surtout les cathéters intravasculaires (ainsi que les sondes pleurales, péritonéales et urinaires ; les shunts de LCR) , le matériel de greffe vasculaire, y compris les shunts d'hémodialyse ; les valvules cardiaques, les stimulateurs cardiaques et les articulations artificielles .

- milieux- hôtes spécifiques :

- Les nouveaux-nés exigeants des soins intensifs, surtout les nourrissons dont le poids de naissances est inférieur à 1000g ou ceux qui reçoivent des infusions intralipidiques ; la septicémie néonatale à staphylocoque coagulase-négatif a été associée à des infections suppurées localisées, à l'endocardite et à l'endocardite nécrosante, même en l'absence de cathéters centraux à demeure.

- Les patients immunodéprimés.

- milieux de maladies cliniques spécifiques :

- infection de la plaie à la suite d'une sternotomie.
- infection urinaire causée par *Staphylococcus saprophyticus*.
- endocardite valvulaire endogène (rare, mais les staphylocoques coagulase-négatifs sont en cause, surtout s'il y a prolapsus valvulaire mitral).

d-Les symptômes cliniques habituels associés à une infection à staphylocoque coagulase-négatif : [17]

Les infections à staphylocoques coagulase-négatifs présentent généralement des signes non spécifiques ; soit des malaises , de l'irritabilité et une fièvre légère.

Les patients paraissent rarement intoxiqués ou infectés.

Chez les nouveaux-nés, une bactériémie à staphylocoque coagulase-négatif a été associée à de la fièvre, à des besoins accrus en oxygène, à de la léthargie et à une intolérance alimentaire, mais pas d'une fréquence accrue d'apnée et à une bradycardie.

En présence de cathéters à demeure ; il peut y avoir une infection locale aux sites de l'insertion externe et sous-cutanée. Un autre signe caractéristique est le dysfonctionnement mécanique du cathéter.

e- Sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques : [15]

Plus de 95% des staphylocoques sont résistants à la pénicilline G. Les staphylocoques communautaires gardent une bonne sensibilité à la méticilline ou oxacilline (90%) (staphylocoque Méti S) , qui reste l'antibiotique de choix.

Par contre, la résistance des souches hospitalières à la méticilline (staphylocoques Meti R) peut aller de 20 à 30% selon l'épidémiologie du service. Tous les secteurs hospitalier sont concernés. L'acquisition de la méti-résistance est le résultat d'une mutation bactérienne .

Cette résistance à la méticilline s'accompagne d'une résistance à toutes les céphalosporines et aux fluoroquinolones. Sur ces même souches, conservent une assez bonne activité par ordre décroissant : les glycopeptides, les synergistines, la rifampicine l'acide fusidique, les fosfomycines, voir même certains aminosides y compris sur *S. aureus* .

I-4- Les agents antibactériens :

De nombreux agents antimicrobiens sont utilisés par l'homme pour combattre les espèces qui lui sont nuisible ou pathogènes. La nature ubiquitaire des micro-organismes et leur propagation permanente par de nombreuses activités humaines rendent crucial cet aspect.

Les agents antibactériens agissent par différents mécanismes et peuvent être utilisés de diverses manières, selon les objectifs recherchés et selon leur spécificité d'action. Cette dernière peut globalement être répartie en deux types : action bactéricide (ou germicide) pour les agents ayant une action létal sur les bactéries, action bactériostatique pour les agents qui inhibent la croissance des bactéries sans les tuer [4] .

I-4-1- Les antibiotiques :

* Définition :

« Toutes les substances chimiques produites par les micro-organismes capables d'inhiber le développement et de détruire les bactéries et d'autres micro-organismes » WAKSMAN (1943) [22].

« Tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des micro-organismes ou même de certains êtres pluricellulaires ». TURPIN et VELU (1957) [22].

I-4-2- Classification des antibiotiques :

a-- But de la classification :

- nombre de molécules élevé, donc faciliter le choix thérapeutique.
- à une parenté structurale s'associera un mode d'action semblable ainsi qu'une modalité d'action et un spectre d'action, donc classification en famille au sein desquels peuvent exister des groupes ou sous groupes. Néanmoins, il existe des antibiotiques « orphelins » : acide fusidique, fosfomycine, triméthoprime [22].

b- Critères de classification :

Il existe plusieurs systèmes de classification des antibiotiques (AB). Le plus courant prend en compte leur mode d'action sur les agents infectieux : certains antibiotiques attaquent la paroi ou la membrane cellulaire, alors que d'autres inhibent la synthèse des acides nucléiques et les protéines. Un autre système consiste à classer les antibiotiques en fonction du spectre d'action [26]. (tableau II)

Tableau II : Spectre d'activité des principaux antibiotiques[8].

| | Principaux antibiotiques | Spectre d'activité |
|--|----------------------------|---|
| Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane | Groupe de la pénicilline | Spectre : bactérie à Gram positif , coques à Gram négatif (inactivé par les penicillinases, notamment celle du staphylocoque) |
| | Fosfomycine | Spectre large |
| | Glycopeptides | Spectre étroit :bactérie à Gram positif (surtout staphylocoque et enterocoque) |
| | Bacitracine | Spectre étroit : bactérie à Gram positif |
| Antibiotiques actifs sur les membranes | Polymyxines | Spectre étroit : bacille Gram négatif sauf <i>Proteus</i> , <i>Providencia Serratia</i> , <i>Bactroides</i> |
| | Gramicidines et tyrocidine | Spectre étroit : bactéries à Gram positif |
| Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique | Aminosides | Spectre large ; les streptocoques et les listeria sont peu sensibles et les bactéries anaérobies résistantes |
| | Macrolides | Spectre limité : bactérie à Gram positif, coque à Gram négatif |
| | Tetracyclines | Spectre large |
| | Chloramphénicol | Spectre large |
| | Acide fusidique | Spectre étroit : bactéries à Gram positif, surtout les staphylocoques (les streptocoques sont peu sensibles) et les coques Gram négatif |
| Antibiotiques Inhibiteurs des acides nucléiques | Rifamycine SV | Spectre limité : bactéries à Gram positif et coque a Gram négatif |
| | Rifampicine | Spectre large |
| | Quinolones | Spectre étroit : bactéries à Gram négatif |
| | Produits classiques | |
| | Nouveaux dérivés | Spectre large |
| | Novobiocine | Spectre étroit : bactéries à Gram négatif : surtout le staphylocoque ; coques à Gram négatif : hémophiles et pasteurelle |
| | 5-nitromidazoles | Spectre particulier ; bactérie anaérobies, sauf bacille à Gram positif non sporulé. |
| | Nitrofuranes | Spectre large, sauf <i>Proteus</i> , <i>Serratia</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter</i> |

- On peut aussi les classer en fonction de leur structure chimique. Les différentes familles sont alors les pénicillines, les céphalosporines, les aminosides, les tetracyclines les macrolides et les sulfamides[25].

I-4-3- Les effets des antibiotiques sur les bactéries :

a- Effet bactériostatique (bactériostase) :

La bactériostase correspond à un ralentissement de la croissance bactérienne (bactériostase partielle), pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la croissance. Ceci ne vaut que si la bactérie était en phase de croissance avant le contact [23].

Les antibiotiques bactériostatiques sont : les tétracyclines, les pénicolles, les macrolides, les sulfamides [26].

b- Effet bactéricide (bactéricidie) :

Certains antibiotiques provoquent, à partir d'une certaine concentration seuil l'apparition d'une mortalité bactérienne. Cette bactéricidie s'effectue selon deux modalités essentiellement :

- l'effet peut être proportionnel à la concentration d'antibiotique (le plus souvent jusqu'à une concentration au de la de laquelle il n'y a plus d'accroissement de la létalité).
- L'effet est de type « tout-ou-rien » et la vitesse de mortalité est maximale dès que la concentration seuil de bactéricidie est atteinte.

Dans le premier cas on parlera de mortalité dépendante de la concentration (ou « concentration dépendante ») ; dans le second cas on parlera de mortalité dépendante du temps d'exposition (ou « temps dépendante ») [23].

- Les antibiotiques bactéricides sont : les bêtalactamines, les aminosides, les quinolones, la vancomycine, la teicoplanine [26].

c- CMI et CMB :

***CMI:**

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique inhibant 18 à 24 heures, la multiplication des bactéries (bactériostase) [2].

***CMB:**

La CMB est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique détruisant, après 18 heures de contact à 37°C, 99.99 % d'une population bactérienne [2].

I-4-4- Principaux antibiotiques actifs sur les staphylocoques :

Les principaux antibiotiques actifs sur les staphylocoques sont représentés dans le tableau (III) [15].

Tableau (III) : Principaux antibiotiques actifs sur les staphylocoques [15].

| Produits de références | Voies posologies (fonction rénale normale) | |
|-------------------------------|--|----------------------|
| | Enfant (/ 24h) | Adulte (/24h) |
| Bétalactamines | | |
| Oxacilline (BRITOPEN ®) | IV, IM 100+150mg/kg | 100-150mg/kg |
| Cloxacilline (orbenine ®) | Per os 35-50mg/kg | 35/50mg/kg |
| Glycopeptides | | |
| Vancomycine (vancocine ®)* | IV 40 mg/g | 40-60 mg/kg |
| Teicoplanine (targocid ®)** | IV , IM 40 mg/kg | |
| Autres produits | | |
| Bétalactamines | | |
| Céfalotine (keflin®) | IV, IM 100mg/kg | 4 –8 g |
| Céfotaxime (claforan ®) | IV 100-200mg/g | 100-200mg/kg |
| Aminosides | | |
| Gentamicine (gentalline ®) | IV(DUJ),IM 3-6mg/mk | 3-4,5 mg/kg |
| Tobramycine (nebcine ®) | IV (DUJ),IM 3-6 mg/kg | 3-4,5 mg/kg |
| Nétilmicine (nebcine ®) | IV(DUJ), IM 6-7,5 mg/kg | 6-7,5 mg/kg |
| Streptogramines | | |
| Pristinamycine (pyostacine ®) | Per os 50 – 100mg/kg | 2-3 g |
| Lincisamides | | |
| Lincomycine (lincocine ®) | IV, IM 10 –20 mg/kg Per os 30 – 60 mg/kg | 1,2 –1,8 g 1,5 – 2 g |

IM: intra-musculaire.

IV: intra-veineuse.

DUJ : dose utilisé journalière.

Deuxième partie
Matériel et
méthodes

II-Matériel et méthodes

Des études faites au par. avant, ont démontré que l'extrait brut de *Ranunculus repens* a une activité anti-staphylocoques coagulase-négatifs.

L'objectif principal de notre étude est d'approfondir cette étude et donc de déterminer les concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales bactéricides. Pour cela on a testé in-vitro différentes souches de staphylocoques coagulase-négatifs provenant de différents produits pathologiques(sperme, prélèvements vaginaux , urines, pus)

II-I-Matériel :

- **Matériel végétal :**

La plante *Ranunculus repens* à été récolté dans les plaines de BENI BELAID et la région de BORDJ-BLIDA (ANDREU) dont on va extraire les principes actifs (totum).

- **Souches bactériennes :**

Les souches bactériennes de staphylocoques ont été isolées de différents produits pathologiques (sperme, prélèvements vaginaux, , pus, et urines) au niveau du laboratoire d'hygiène de la wilaya de JIJEL et le laboratoire de bactériologie du docteur BEKIOUA ainsi que le centre hospitalo-universitaire de la wilaya de BATNA (BEN-FLISSE)

On a récolté après identification 21 souches de staphylocoques coagulase-négatifs : 11 souches isolées du sperme, 5 souches isolées de prélèvements vaginaux, 3 souches isolées des urines et 2 souches isolées du pus. Fig (3)

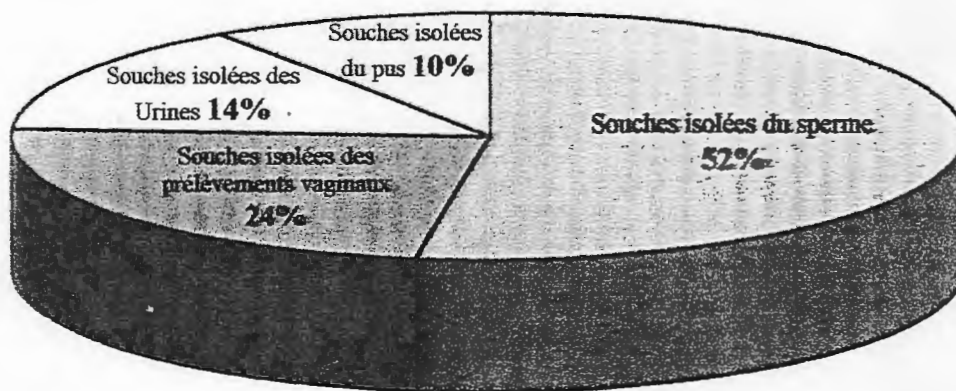


Figure (3) : Pourcentage des souches en fonction de la nature du prélèvement

• **Autre matériel :**

- boîtes de Pétri.
- pipettes pasteur.
- fioles.
- anse de platine.
- becher.
- entonnoir.
- flacons stériles.
- micropipettes.
- tubes à hémolyse.
- filtres.
- tamis.
- plaque à cupules.
- Vacutainère.
- Eppendoff.
- bec bunsen.
- tubes à essais stériles.

*Appareils utilisés :

- étuve.
- broyeur.
- centrifugeuse.
- rota –vapor.
- Balance.

*milieux utilisés :

- bouillons nutritifs.
- eau physiologique.
- gélose Chapman.
- gélose nutritive.
- gélose Muller-Hinton.

*Solvants et réactifs :

- éthanol.
- eau distillée.
- plasma de lapin.

II-2- Méthodes :

II-2-1- Prélèvements des échantillons :

Ils doivent être effectués avant toute antibiothérapie et pratiquer avec une asepsie rigoureuse : non seulement pour les hémocultures, les LCR, les urines, mais aussi pour les pus, les biopsies, les aspirations bronchiques, les écouvillonnages. Ils faut éviter la contamination du produit pathologique par les souches de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus epidermidis* souvent présentes sur la peau[].

II-2-2- Isolement des souches bactériennes :

Les souches sont isolées sur gélose Chapman. Les staphylocoques coagulase négatifs sont des colonies non pigmentées, brillantes, crémeuses, blanches et de 1...2 mm de diamètre. Fig (4)

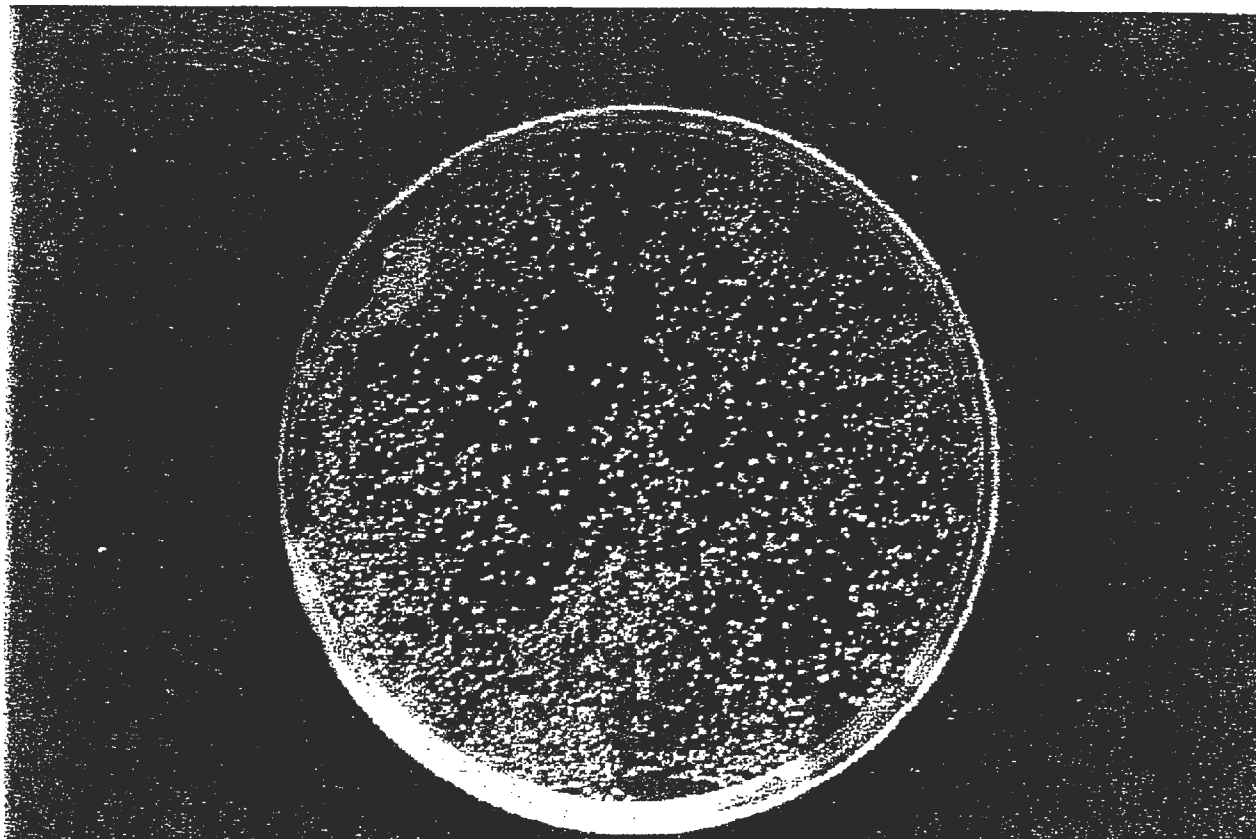


Figure (4) : Aspect des colonies de staphylocoques coagulase-négatifs isolées sur gélose Chapman

II-2-3- Examen direct : coloration de Gram

Après coloration de Gram, les staphylocoques apparaissent comme des cocci à Gram positif, de 0.8 à 1µm de diamètre disposés en amas, en diplocoques, en courtes chaînettes, voir en grappes typiques.

II-2-4- Identification :

Nous avons identifié les staphylocoques coagulase-négatifs (SCN) en nous basons sur le test de la coagulase.

*Le test coagulase :

- On mélange 0.5ml de plasma de lapin (ou humain) avec 0.5ml d'une suspension bactérienne de *Staphylococcus* dans les tubes à hémolyse.
- On laisse à 37°C pendant 24 heures. (la prise en masse recherchée par inclinaison de tube est observée d'abord après 4 heures d'incubation, puis après 24 heures .

II-2-5-Préparation de l'extrait brut de la plante sèche *Ranunculus repens* :

- Séchage de la plante à l'air libre du laboratoire puis à l'étuve à 50°C
- Broyage jusqu'à obtention d'une poudre fine.
- La poudre tamisée est trempée dans un solvant contenant 70% d'éthanol et 30% d'eau distillée pour l'extraction des principes actifs pendant 72 heures (macération).

- Filtration.
- Evaporation de l'éthanol plus l'eau distillée par le rotavapor.
- Obtention d'un résidu aqueux concentré ; c'est l'extrait brut ou totum (le total des principes actifs). **Fig (5) et Fig (6)**

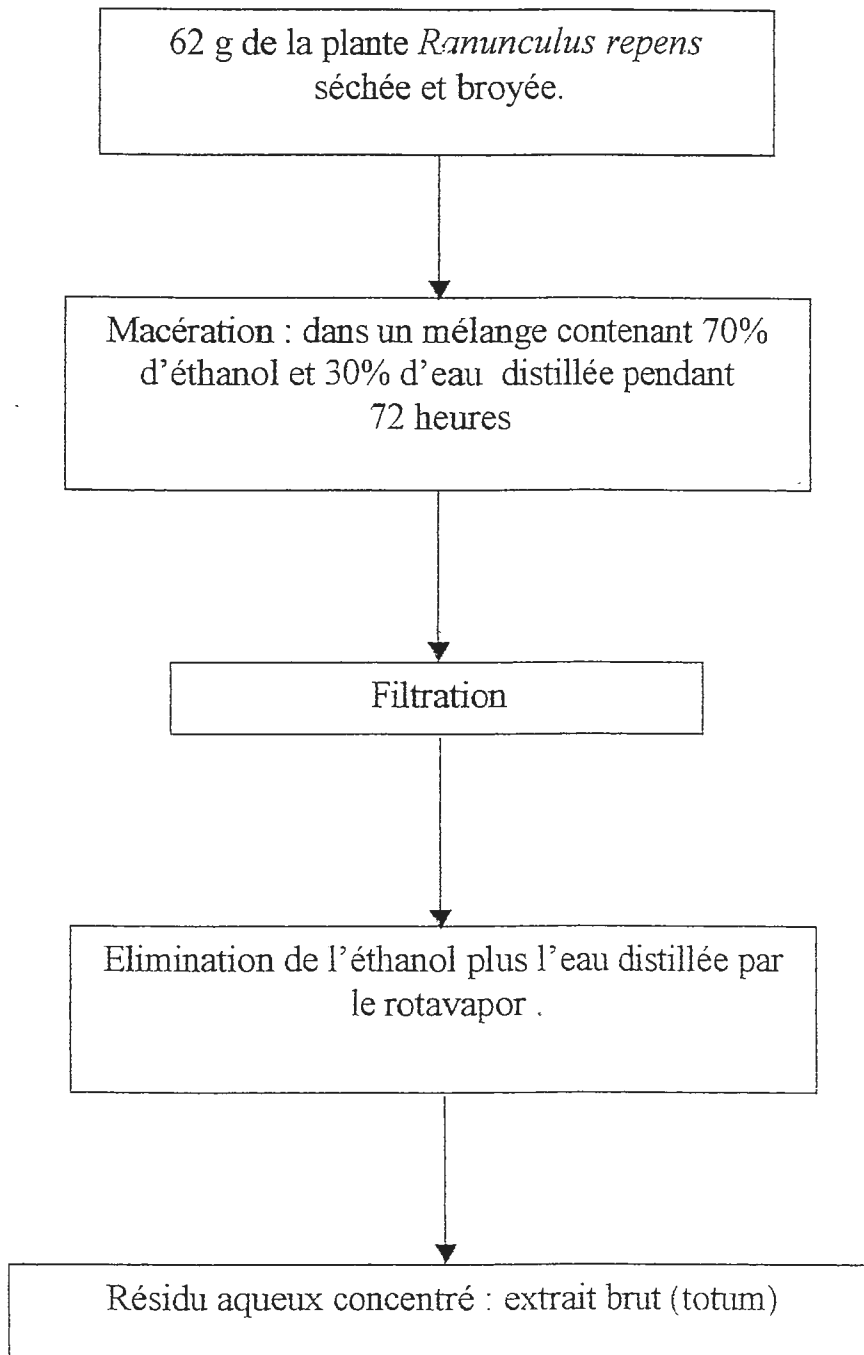
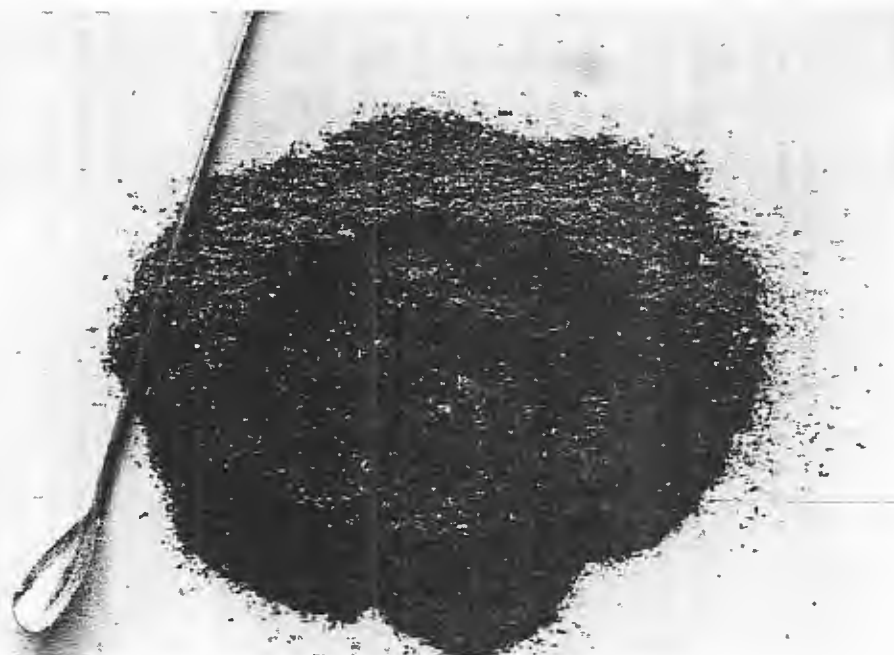
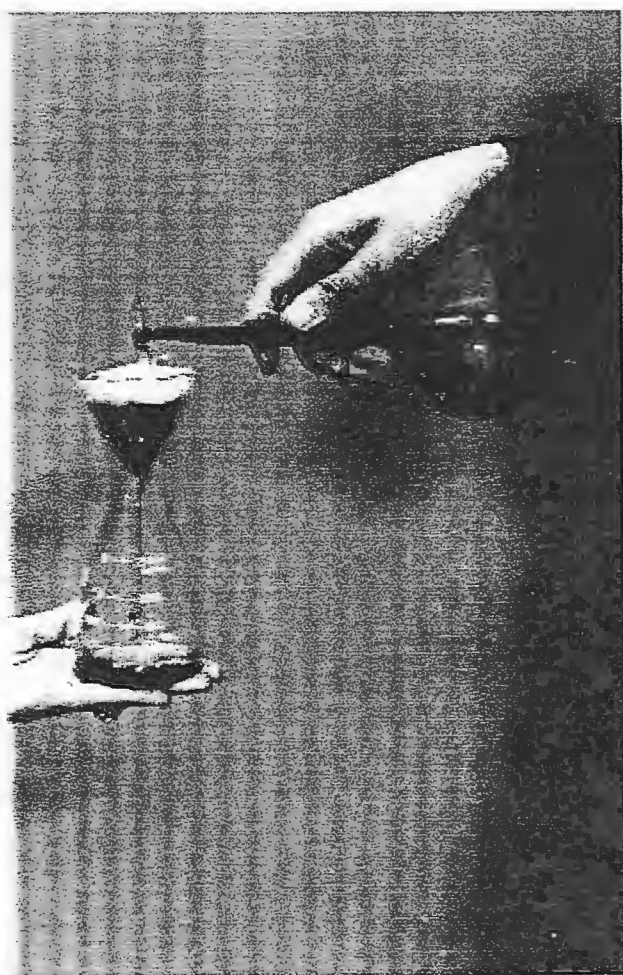


Figure (5) : Méthode d'extraction des principes actifs de la plante sèche de *Ranunculus repens*



(a)



(b)



(c)

Figure (6) : - (a) : poudre obtenue après séchage et broyage de la plante *Ranunculus repens*,
- (b) : filtration de l'extrait après macération, - (c) : l'extrait brut de *Ranunculus repens*.

II-2-6- Préparation des dilutions de l'extrait de la plante *Ranunculus repens* :

Les volumes de l'extrait brut et de l'eau distillée (solvant) utilisés pour la préparation des dilutions sont représentés dans le tableau (IV).

Tableau (IV) : Préparation des dilutions de l'extrait de la plante *Ranunculus repens*

| dilutions \ volume en µl | Volume de l'extrait brut | Volume de l'eau distillée | Volume total |
|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------|
| 1/2 | 262.5 | 257.5 | 525 |
| 1/4 | 131.25 | 393.75 | 525 |
| 1/8 | 65.62 | 459.37 | 525 |
| 1/12 | 43.75 | 481.25 | 525 |
| 1/16 | 32.81 | 492.18 | 525 |
| 1/20 | 26.25 | 498.75 | 525 |
| 1/24 | 21.87 | 503.12 | 525 |

II-2-7- Evaluation de l'activité anti-staphylocoques coagulase-négatifs:

II-2-7-1- Préparation de l'inoculum et ensemencement :

- A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu liquide (bouillon nutritif) prélever à l'aide d'une anse de platine une ose de la suspension bactérienne.
- Décharger l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être 0,5 Mc FARLAND ou ; (à une DO de 0,08 à 0,1 à 625 nm).
- L'inoculum peut être ajusté soit en ajoutant de la solution physiologique soit en ajoutant de la culture.
- L'inoculum doit être utilisé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

* Ensemencement :

- Inonder la totalité de la surface gélosée sèche avec quelques millimètres de l'inoculum bactérien
- Aspirer le liquide en excès à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Les boîtes ainsi ensemencées sont mises à sécher 15 minutes à 37 C°.

a-Test de l'antibiogramme : méthode des disques.

➤ Application des disques :

- Les disques imprégnés de l'extrait de *R. repens* séchés sont appliqués à l'aide d'une pince fine flambée à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface.

- Les disques doivent être espacés de 30 mm au minimum de sorte que les zones d'inhibitions ne se chevauchent pas, et il ne faut pas dépasser 6 disques par boîte de Pétri.
- Il est important d'observer une prédiffusion de l'extrait de 30 mm à température ambiante avant de porter les boîtes à l'étuve.

b- Méthode de diffusion en gélose (méthode des puits) :

➤ Réalisation des puits :

- Réaliser 6 puits dans chaque boîtes ensemencée et séchée .(il ne faut pas mettre plus de 6 puits sur une boîte de 90 mm de diamètre).
- Distribuer dans chaque puit 25 ul de chaque dilution de l'extrait de façon à réaliser une gamme de concentration croissante.
- Il est important d'observer une prédiffusion de l'extrait de 30 mm à température ambiante avant de porter les boîtes à l'étuve.

II-2-7-2- Incubation : pour les 2 tests , les boîtes sont incubées 18 heures à 37 C°.

I-2-8- Détermination de la CMB par la méthode de dilution en milieu liquide :

***Technique :**

- Distribuer sous un même volume des concentrations décroissantes de l'extrait de la plante , dans une série de tube contenant 5 ml de bouillon nutritif .
- Décharger dans chaque tube contenant l'extrait une ose bactérienne prélevée d'une culture jeune de 18 heures.
- Porter les tubes à l'étuve pendant 18 heures à 37 C°.
- Après incubation prélever une ose bactérienne à partir de chaque tube que l'on ensemence par stries à la surface d'une boîte de gélose nutritive.
- Porter les boîtes à l'étuve pendant 18 heures à 37 C°.

* On a utilisé 7 dilutions pour chaque souche.

- Souches isolées du sperme :

S1 : 1/10, 1/12, 1/14, 1/16, 1/18, 1/20, 1/22

S2 : 1/6, 1/8, 1/10, 1/12, 1/14, 1/16, 1/18

S3 : 1/2, 1/4, 1/6, 1/8, 1/10, 1/12, 1/14

S11 : 1/6, 1/8, 1/10, 1/12, 1/14, 1/16, 1/18

- Souches isolées des prélèvements vaginaux :

S3 : 1/10, 1/12, 1/14, 1/16, 1/18, 1/20, 1/22

S5 : 1/6, 1/8, 1/10, 1/12, 1/14, 1/16, 1/18

- Souche isolée du pus :

S2 : 1, 1/12, 1/4, 1/6, 1/8, 1/10.

III-Résultats et interprétations :

Notre étude comporte :

- L'évaluation de l'activité anti-staphylocoques coagulase-négatifs d'un extrait de *Ranunculus repens*.
- La détermination des CMI d'un extrait de *Ranunculus repens* vis-à-vis des staphylocoques coagulase-négatifs.
- La détermination des CMB d'un extrait de *Ranunculus repens* vis-à-vis des staphylocoques coagulase-négatifs.

III-1-Evaluation de l'activité anti-staphylocoques coagulase-négatifs d'un extrait de *Ranunculus repens* par le test de l'antibiogramme (méthode des disques) :

Nous avons réalisé le test de l'antibiogramme dans le but de confirmer qu'il y a bien une activité anti-staphylocoques coagulase-négatifs, de l'extrait de *Ranunculus repens* qui a déjà fait l'objet d'étude précédente .

Effectivement nos résultats de l'antibiogramme ont bien montré l'activité de l'extrait vis-à-vis de nos souches , par exemple : après incubation à 37 C° pendant 18 heures on a constaté dans la boîte de Pétri une croissance bactérienne normale d'une souche isolée du sperme , sauf autour des disques imprégnés de l'extrait de *R. repens*. Ces disques sont entourés d'une zone d'inhibition très nette dont le diamètre est considérable : 23 mm pour l'extrait brut et 19 mm pour la dilution (1/2).Fig (7)

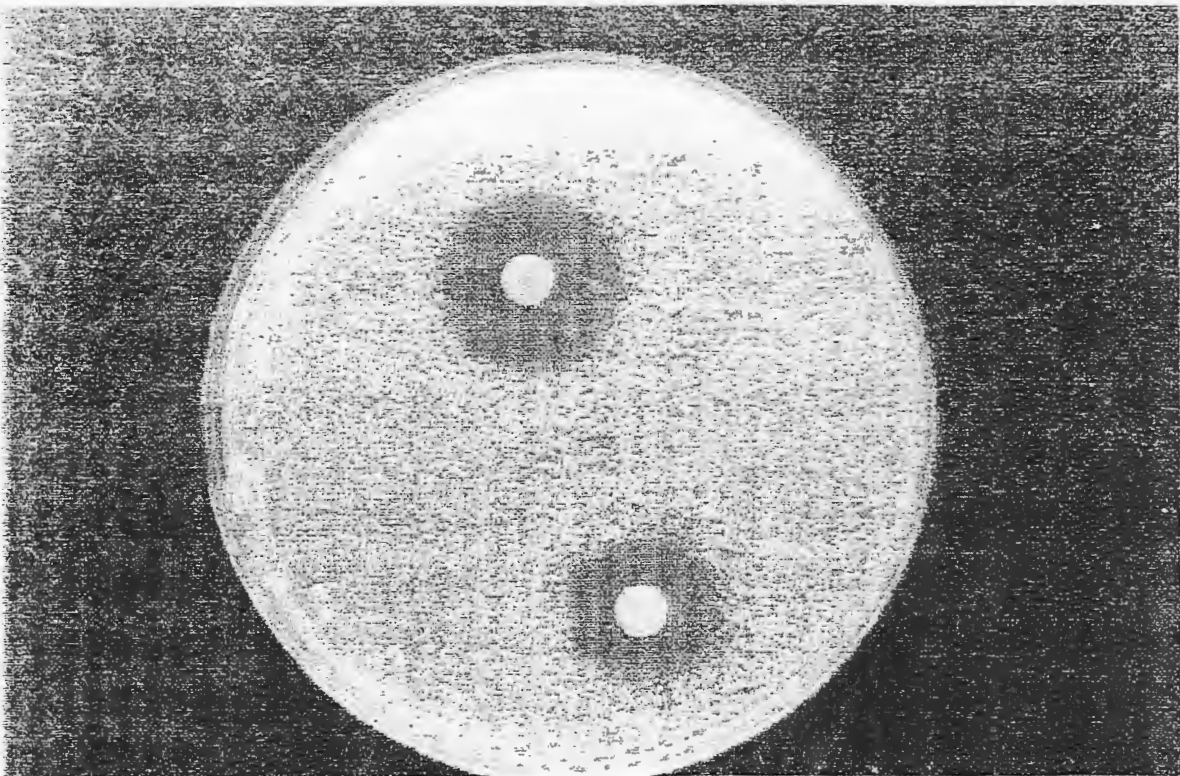


Figure (7) : méthode des disques testé sur la souche3 isolée d'un prélèvement vaginal.

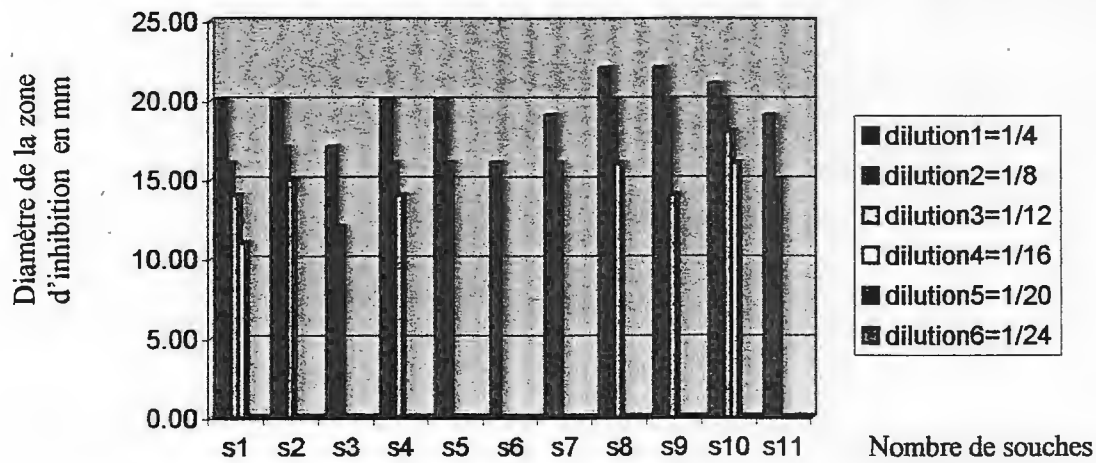
III-2- Détermination de la CMI par la méthode de diffusion en gélose (méthode des puits):

-Les valeurs de la CMI et les diamètres des zones d'inhibitions obtenues pour chaque souche isolée du sperme sont résumées dans le tableau (V) :

Tableau(V): Détermination de la CMI des souches isolées du sperme.

| dilutions souches | Diamètre de la zone d'inhibition en mm | | | | | | CMI |
|----------------------|--|-----|------|------|------|------|------|
| | 1/4 | 1/8 | 1/12 | 1/16 | 1/20 | 1/24 | |
| S1 | 20 | 16 | 14 | 11 | 00 | 00 | 1/16 |
| S2 | 20 | 17 | 15 | 00 | 00 | 00 | 1/12 |
| S3 | 17 | 12 | 00 | 00 | 00 | 00 | 1/8 |
| S4 | 20 | 16 | 14 | 00 | 00 | 00 | 1/12 |
| S5 | 20 | 16 | 00 | 00 | 00 | 00 | 1/8 |
| S6 | 16 | 00 | 00 | 00 | 00 | 00 | 1/4 |
| S7 | 19 | 16 | 00 | 00 | 00 | 00 | 1/8 |
| S8 | 22 | 20 | 16 | 00 | 00 | 00 | 1/12 |
| S9 | 22 | 20 | 14 | 00 | 00 | 00 | 1/12 |
| S10 | 21 | 20 | 18 | 16 | 00 | 00 | 1/16 |
| S11 | 19 | 15 | 00 | 00 | 00 | 00 | 1/8 |

- la CMI la plus importante (1/16) a été obtenue avec les souches1 et 10, pour les autres souches elle varie entre (1/4) et (1/12).
- On a remarqué que les souches les plus sensibles envers l'extrait sont la souche1 et la souche10 avec une CMI égale à (1/16) et un diamètre de la zone d'inhibition de 20mm pour la souche1 et 21mm pour la souche10 avec la dilution (1/4), par contre la souche la plus résistante envers l'extrait est la souche 6 avec une CMI égale à (1/4) et un diamètre de la zone d'inhibition égale à 16mm. Fig (8) et (9)



Figure(8) : Diamètres des zones d'inhibitions des souches isolées du sperme en fonction de la souche et des dilutions

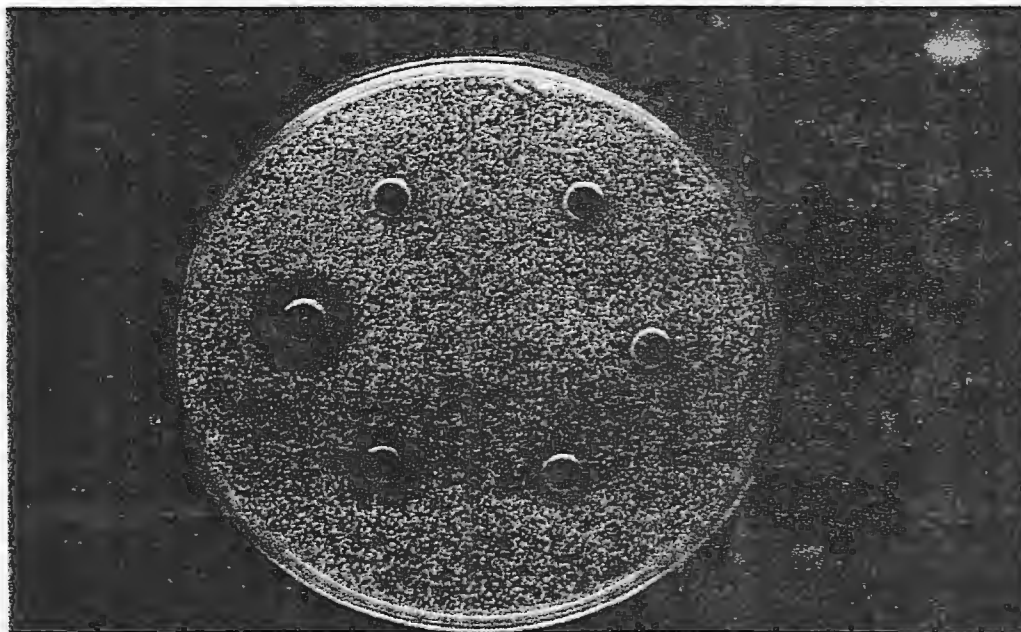


Figure (9): Détermination de la CMI par la méthode de diffusion en gélose (méthode des puits) pour la souche 3 isolée du sperme.

-les valeurs de la CMI et les diamètres des zones d'inhibitions obtenues pour chaque souche isolée des prélèvements vaginaux sont représentés dans le tableau (VI).

Tableau(VI): Détermination de la CMI des souches isolées des prélèvements vaginaux

| dilutions souches | Diamètre de la zone d'inhibition en mm | | | | | | CMI |
|----------------------|--|-----|------|------|------|------|------|
| | 1/4 | 1/8 | 1/12 | 1/16 | 1/20 | 1/24 | |
| S1 | 20 | 18 | 16 | 12 | 00 | 00 | 1/16 |
| S2 | 21 | 18 | 16 | 00 | 00 | 00 | 1/12 |
| S3 | 23 | 18 | 12 | 10 | 00 | 00 | 1/16 |
| S4 | 22 | 18 | 16 | 14 | 11 | 00 | 1/20 |
| S5 | 20 | 18 | 15 | 00 | 00 | 00 | 1/12 |

- la CMI la plus importante (1/20) est obtenue avec la souche4, pour les autres souches elle varie entre (1/12) et (1/16).
- On a remarqué que la souche la plus sensible envers l'extrait est la souche 4 avec une CMI égale à (1/20) et un diamètre de la zone d'inhibition égale à 22 mm pour la dilution (1/4), par contre la souche la plus résistante envers l'extrait est la souche 5 avec une CMI égale à (1/12) et un diamètre de la zone d'inhibition égale à 20 mm pour la dilution (1/4). Fig (10) et Fig (11, 12)

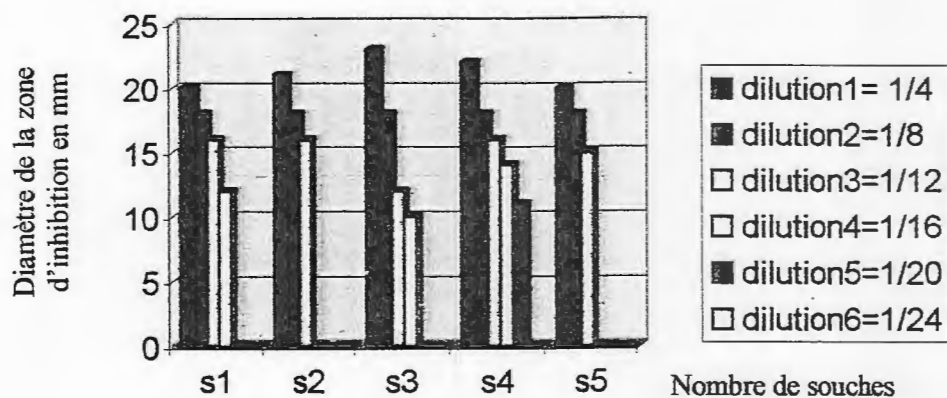


Figure (10) : Diamètres des zones d'inhibitions des souches isolées des prélèvements vaginaux en fonction de la souche et des dilutions

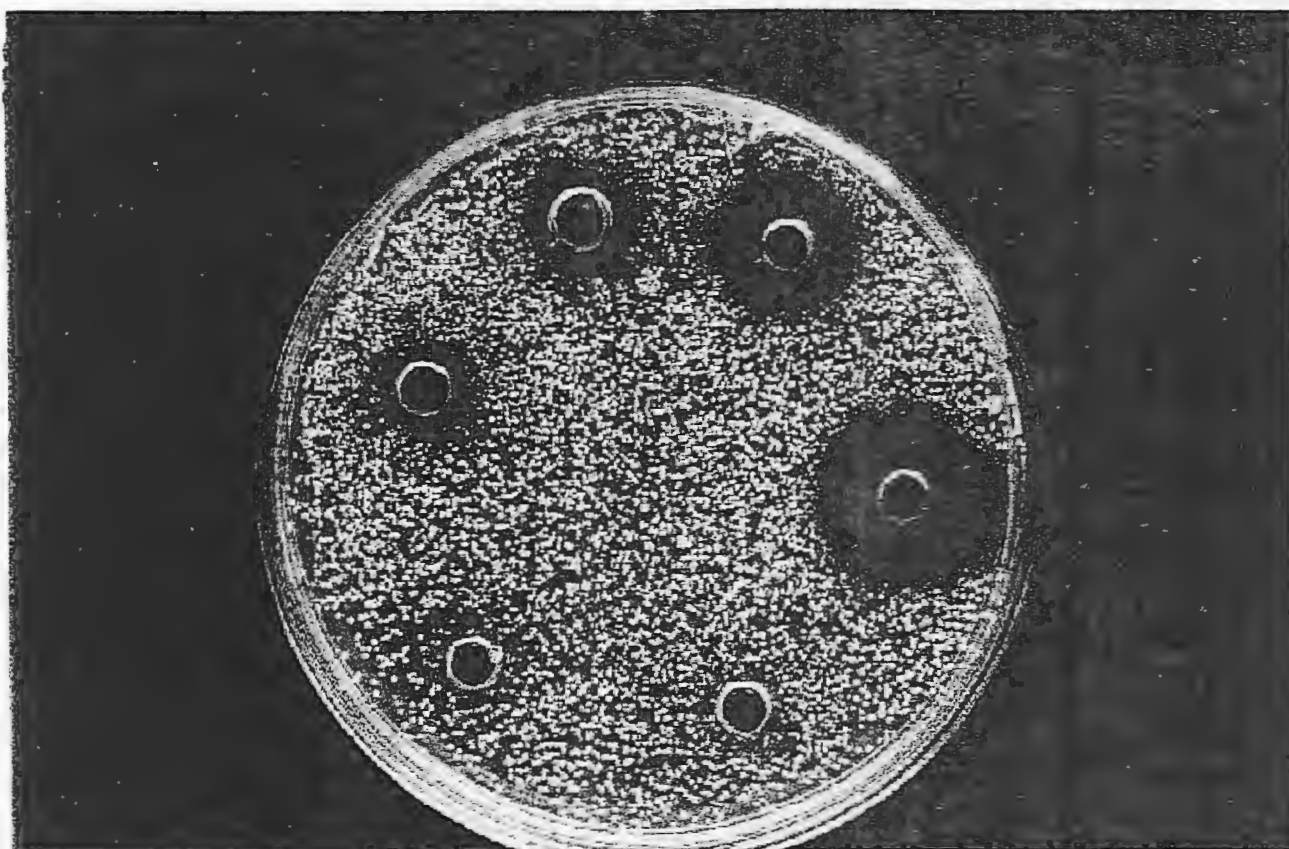


Figure (11) : Détermination de la CMI par la méthode de diffusion en gélose (méthode des puits) de la souche3 isolée d'un prélèvement vaginal

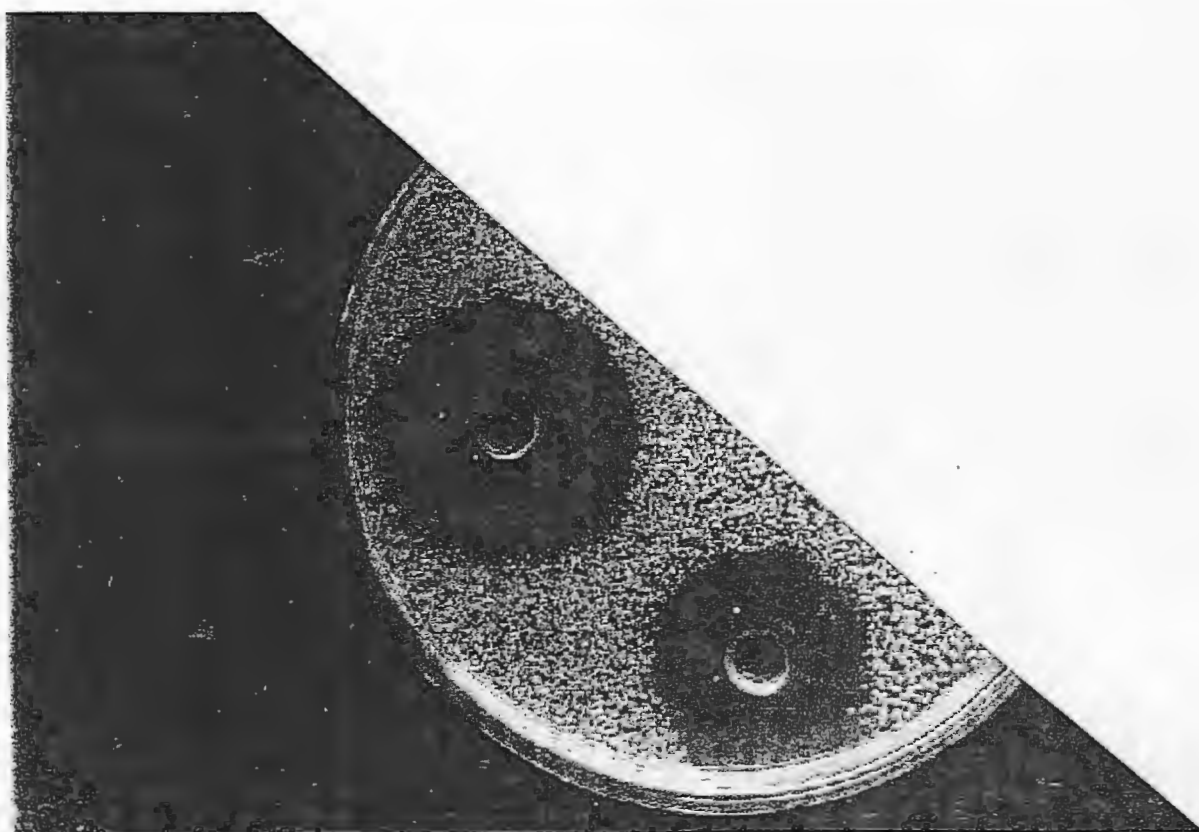


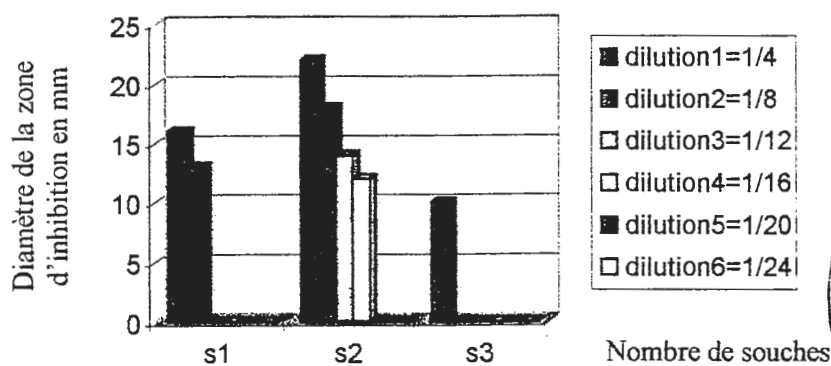
Figure (12) : Détermination de la CMI par la méthode de diffusion en gélose de la souche3 isolée d'un prélèvement vaginal obtenue avec l'extrait brut et la dilution 1/2.

-Les valeurs de la CMI et des diamètres des zones d'inhibitions obtenues pour chaque souche isolée des urines sont représentées dans le tableau (VII).

Tableau(VII): Détermination de la CMI des souches isolées des urines

| dilutions souches | Diamètre de la zone d'inhibition en mm | | | | | | CMI |
|----------------------|--|-----|------|------|------|------|------|
| | 1/4 | 1/8 | 1/12 | 1/16 | 1/20 | 1/24 | |
| S1 | 16 | 13 | 00 | 00 | 00 | 00 | 1/8 |
| S2 | 22 | 18 | 14 | 12 | 00 | 00 | 1/16 |
| S3 | 10 | 00 | 00 | 00 | 00 | 00 | 1/4 |

- la CMI la plus importante (1/16) est obtenue avec la souche 2, pour les deux autre souches elle varie entre (1/4) et (1/8).
- On a remarqué que la souche la plus sensible envers l'extrait est la souche2 avec une CMI égale à (1/16) et un diamètre de la zone d'inhibition égale à 22 mm pour la dilution (1/4), par contre la souche la plus résistante envers l'extrait est la souche3 avec une CMI égale à (1/4) et un diamètre de la zone d'inhibition égale à 10 mm Fig (13).



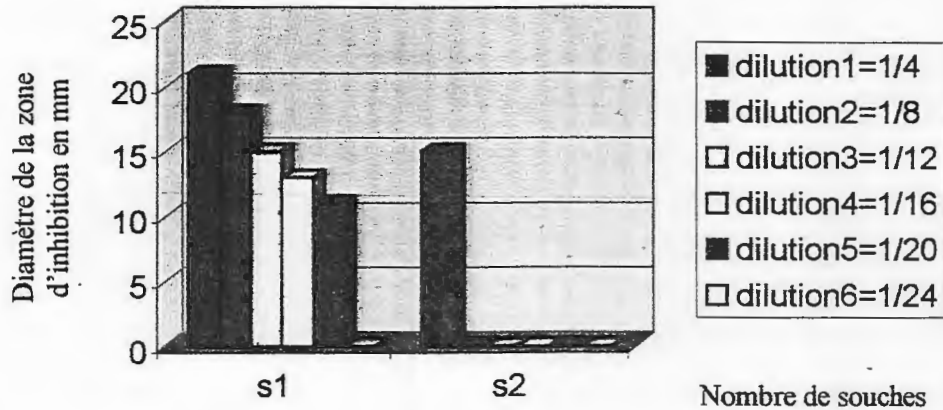
Figure(13) : Diamètres des zones d'inhibitions des souches isolées des urines en fonction de la souche et des dilutions

- Les valeurs de la CMI et des diamètres des zones d'inhibitions obtenues pour chaque souche isolée du pus sont représentées dans le tableau (VIII).

Tableau (VIII): Détermination de la CMI des souches isolées du pus

| dilutions souches | Diamètre de la zone d'inhibition en mm | | | | | | CMI |
|----------------------|--|-----|------|------|------|------|------|
| | 1/4 | 1/8 | 1/12 | 1/16 | 1/20 | 1/24 | |
| S1 | 21 | 18 | 15 | 13 | 11 | 00 | 1/20 |
| S2 | 15 | 00 | 00 | 00 | 00 | 00 | 1/4 |

- On a remarqué que la souche la plus sensible envers l'extrait est la souche 1 avec une CMI égale à (1/20) et un diamètre de la zone d'inhibition égale à 20 mm pour la dilution (1/4), par contre la souche la plus résistante envers l'extrait est la souche 2 avec une CMI égale à (1/4) et un diamètre de la zone d'inhibition égale à 15 mm. Fig (14)



Figure(14) : Diamètres des zones d'inhibitions des souches isolées du pus en fonction de la souche et des dilution

- En générale, les résultats obtenus avec les différentes souches provenant de différents produits pathologiques montrent que la CMI varie entre (1/4) et (1/20) fig (15), et que les diamètres des zones d'inhibitions sont inversement proportionnelles à la dilution de l'extrait et varient selon les souches.

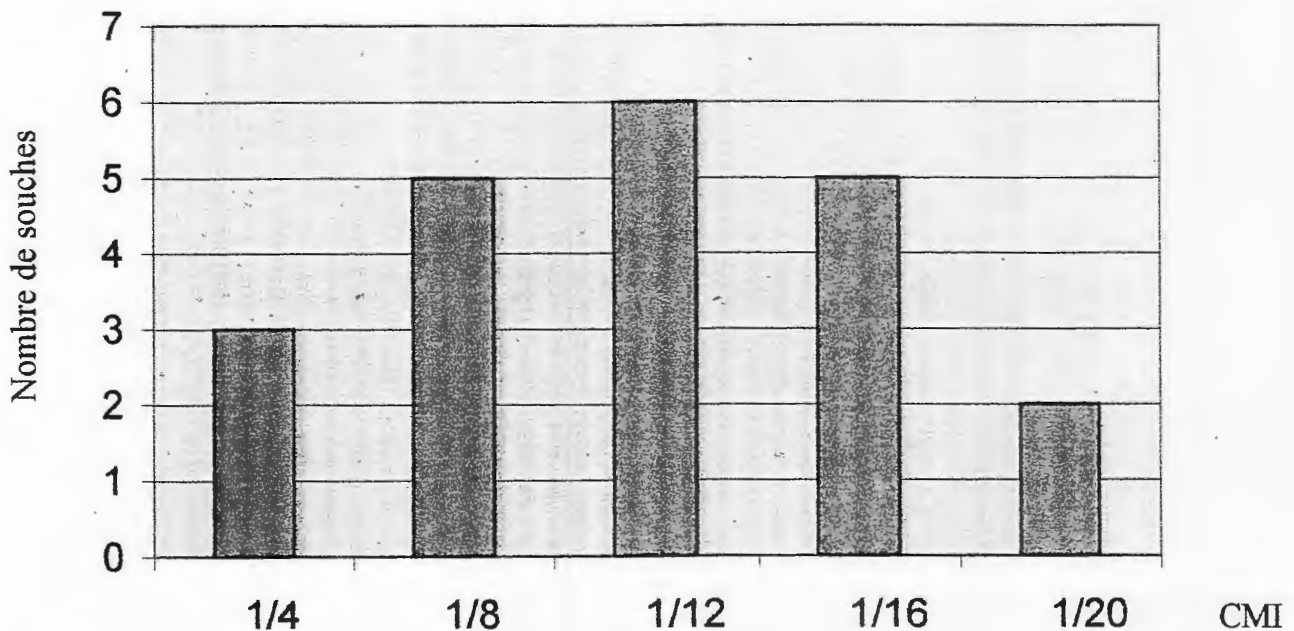


Figure (15) : Nombre de souches en fonction des CMI

III-3- La détermination de la CMB par la méthode de dilution en milieu liquide :

-les valeurs de la CMB obtenues avec les 7 souches sont représentées dans le tableau (IX)

Tableau (IX) : détermination de la CMB par la méthode de dilution en milieu liquide :

| | | Dilutions | | | | | | | | | | | | CMB |
|-----------------------|-----|-----------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | | 1 | 1/2 | 1/4 | 1/6 | 1/8 | 1/10 | 1/12 | 1/14 | 1/16 | 1/18 | 1/20 | 1/22 | |
| sperme | S1 | / | / | / | / | / | - | - | + | + | + | + | + | 1/12 |
| | S2 | / | / | / | - | - | - | + | + | + | + | / | / | 1/10 |
| | S3 | / | - | - | + | + | + | + | + | / | / | / | / | 1/4 |
| | S11 | / | / | / | - | + | + | + | + | + | + | / | / | 1/6 |
| Prélèvements vaginaux | S3 | / | / | / | / | / | - | - | - | - | + | + | + | 1/16 |
| | S5 | / | / | / | - | + | + | + | + | + | + | / | / | 1/6 |
| pus | S2 | - | - | + | + | + | + | / | / | / | / | / | / | 1/2 |

+: pousse

-: pas de pousse

Suite à un manque d'extrait de la plante *Ramunculus repens*, nous n'avons pu déterminer la CMB que pour 7 souches (souche1, 2, 3 et 11) isolées du sperme, (souche3 et souche5) isolées des prélèvements vaginaux et (la souche2) isolée du pus.

Les résultats ont révélé que les valeurs de la CMB varient entre (1/2) et (1/16).la CMB la plus importante (1/16) est obtenue avec la souche3 isolée d'un prélèvement vaginal.

IV- Analyse statistique :

Dans le but de compléter notre étude, nous proposons d'approfondir certains paramètres ; effet dose et effet souche.

IV-1- Analyse de la variance pour les souches isolées des différents prélèvements.

IV-1- 1- Analyse de la variance pour les souches isolées du sperme.

L'analyse statistique de la variance entre les valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour les souches isolées du sperme sont représentées dans le tableau (X).

Tableau (X) : Analyse de la variance pour les souches isolées du sperme.

| $\sum CE$ | SCE | ddl | CM | F _{obs} | F _{table} (p < 0.01) |
|---------------------------|----------------|-----------|----------------|------------------|--------------------------------|
| TOT | 4668.76 | 65 | - | - | - |
| f.E (effet dose) | 3808.12 | 5 | 761.624 | 101.68 | 3.41 |
| f.C (effet souche) | 485.76 | 10 | 48.57 | 6.48 | 2.70 |
| r | 374.88 | 50 | 7.48 | - | - |

IV-1-2- Analyse de la variance pour les souches isolées des prélèvements vaginaux :

L'analyse statistique de la variance entre les valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour les souches isolées des prélèvements vaginaux sont représentées dans le tableau (XI).

Tableau (XI) : Analyse de la variance pour les souches isolées de prélèvements vaginaux :

| $\sum CE$ | SCE | ddl | CM | F _{obs} | F _{table} (p < 0.01) |
|--------------------------|----------------|-----------|---------------|------------------|--------------------------------|
| TOT | 2376.97 | 29 | - | - | - |
| f.E (effet dose) | 2056.57 | 5 | 411.31 | 35.79 | 3.73 |
| f.C(effet souche) | 90.74 | 4 | 22.617 | 1.96 | 4.04 |
| r | 229.93 | 20 | 11.49 | - | - |

IV-1-3- Analyse de la variance pour les souches isolées des urines.

L'analyse statistique de la variance entre les valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour les souches isolées des urines sont représentées dans le tableau (XII).

Tableau (XII) : Analyse de la variance pour les souches isolées des urines.

| $\sum CE$ | SCE | ddl | CM | F _{obs} | F _{table} (p < 0.01) |
|--------------------|---------------|-----------|---------------|------------------|--------------------------------|
| TOT | 1060.5 | 17 | - | - | - |
| f.E (effet dose) | 589.16 | 5 | 117.83 | 5.87 | 6.64 |
| f.C (effet souche) | 270.33 | 2 | 135.16 | 6.74 | 7.66 |
| r | 200.55 | 10 | 20.05 | - | - |

IV-1-4- Analyse de la variance pour les souches isolées du pus.

L'analyse statistique de la variance entre les valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour les souches isolées du pus sont représentées dans le tableau (XIII).

Tableau (XIII) : Analyse de la variance pour les souches isolées du pus.

| $\sum CE$ | SCE | ddl | CM | F _{obs} | F _{table} (p < 0.01) |
|--------------------|---------------|-----------|---------------|------------------|--------------------------------|
| TOT | 784.25 | 11 | - | - | - |
| f.E (effet dose) | 346.75 | 5 | 69.35 | 3.24 | 10.97 |
| f.C (effet souche) | 330.75 | 1 | 330.75 | 15.49 | 5.76 |
| r | 106.75 | 5 | 21.35 | - | - |

IV-2- Résultats de l'analyse statistique.**IV-2-1-Souches isolées du sperme :****a- effet dose :**

L'analyse de la variance entre les valeurs des diamètres des zone d'inhibition obtenue, a montré que la dose de l'extrait de *Rananculus repens* a un effet hautement significatif (**) sur la croissance des 11 souches (p < 0,01), Tableau (X).

Ce résultat est peut être due à la dépendance de l'inhibition bactériennes à la dilution utilisée.

b- Effet souche :

Le résultat de l'analyse de la variance entre les valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour les différentes souches de staphylocoques coagulase-négatifs a montré un effet souche hautement significatif (**) (p < 0,01), tableau (X).

Ce résultat est peut être due à la différence de la sensibilité des 11 souches envers l'extrait. Nous pensons que cette différence de sensibilité est peut être due à une différence de sérotype.

IV-2-2-Souches isolées des prélèvements vaginaux :**a- Effet dose :**

L'analyse de la variance entre les valeurs des diamètres des zones d'inhibition obtenue a montré que la dose de l'extrait de *R.repens* a un effet hautement significatif (**) sur la croissance des 05 souches (p < 0,01), tableau (XI).

Ce résultat est peut être due à la dépendance de l'inhibition bactériennes à la dilution utilisée.

b- Effet souches :

Le résultat de l'analyse de la variance entre les diamètres des zones d'inhibition pour les différentes souches de staphylocoques coagulase-négatifs a montré qu'il n'y a aucune signification (NS) ($p < 0,01$), tableau (XI).

Les souches ont peut être la même sensibilité envers l'extrait. Nous pensons que ces souches appartiennent au même sérotype .

IV-2-3-Souches isolées des urines :

L'analyse de la variance a montré qu'il n'y a aucune signification pour l'effet dose et l'effet souche ($p < 0,01$), tableau (XII). Mais les résultats obtenus avec la méthode de diffusion en gélose démontrent le contraire . Cela s'explique par le nombre d'effectif minime (3 souches).

IV-2-4-Souches isolées du pus :

a- Effet dose :

L'analyse de la variance entre les diamètres des zones d'inhibition obtenue a montré que la dose de l'extrait de *R.repens* n'a aucun effet significatif (NS) sur les 2 souches ($p < 0,01$), tableau (XIII). Mais les résultats obtenus avec la méthode de diffusion en gélose ont démontré que l'inhibition bactérienne dépend de la dilution utilisée . Cela s'explique par le nombre d'effectif minime (2 souches).

b-Effet souche :

L'analyse de la variance entre les diamètres des zones d'inhibition pour les 2 souches de staphylocoques coagulase-négatifs a montré qu'il y a un effet hautement significatif (**), tableau (XIII).

Cela est peut être due à la différence de sensibilité des 2 souches envers l'extrait de *R. repens*. Nous pensons que cette différence de sensibilité est peut être due à une différence de sérotype.

INTERPRETATION

Interprétation :

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

Dans un premier temps, nous avons évalué in-vitro l'activité antibactérienne de l'extrait de la plante *Ranunculus repens* vis-à-vis des staphylocoques coagulases-négatifs. Les résultats ont révélé une sensibilité importante de ces derniers envers l'extrait.

Puis par la méthode de diffusion en gélose on a pu déterminer les valeurs de la CMI. Nos résultats ont montré que ces valeurs varient entre (1/4) et (1/20), la CMI la plus importante pour les souches isolées du sperme (1/16) est obtenue avec la souche1 et la souche10, avec des diamètres des zones d'inhibitions de 11 mm pour la souche1 et 16 pour la souche10. la CMI la plus importantes pour les souches isolées des prélèvements vaginaux (1/20) est obtenue avec la souche4, avec un diamètre de la zone d'inhibition de 11 mm. La CMI la plus importante pour les souches isolées des urines (1/16) est obtenue avec la souche2, avec un diamètre de la zone d'inhibition de 12 mm. La CMI la plus importante pour les souches isolées du pus (1/20) est obtenue avec la souche1, et un diamètre de la zone d'inhibition de 11 mm.

On a remarqué que les diamètres des zones d'inhibitions sont inversement proportionnelles à la dilution utilisée.

La méthode de dilution en milieu liquide nous a permis de déterminer les valeurs de la CMB pour 7 souches qui varient entre (1/2) et (1/16). La CMB la plus importante (1/16) est obtenue avec la souche3 isolée d'un prélèvement vaginal.

Les résultats statistiques pour les souches isolées du sperme ont montré que l'activité antibactérienne dépend peut être de la dilution utilisée et que la sensibilité des 11 souches envers l'extrait est différente. Nous pensons que cette différence de sensibilité est peut être due à une différence de sérotypes (effet dose et effet souche hautement significatif , $p < 0.01$).

Pour les 5 souches isolées des prélèvements vaginaux, les résultats de l'étude statistique ont montré que l'inhibition bactérienne dépend peut être de la dilution utilisée (effet dose hautement significatif, $p < 0.01$), mais que les souches ont une même sensibilité envers l'extrait, nous supposons que les souches appartiennent peut être au même sérotype (aucune signification pour l'effet souche , $p < 0.01$).

Les résultats de l'analyse statistique des 3 souches isolées des urines ont révélé qu'il n'y a aucune signification pour l'effet dose et l'effet souche ($p < 0.01$), alors que les résultats obtenus par la méthode de diffusion en gélose ont démontré le contraire, et cela pour l'effet dose et l'effet souche. Ce résultat est du au nombre d'effectif minime.

Par contre les 2 souches isolées du pus ont montré une sensibilité différente envers l'extrait (effet souche hautement significatif $p < 0.01$), nous supposons que cette différence de sensibilité est due peut être à une différence de sérotype.), et on n'a obtenu aucune signification pour l'effet dose, alors que les résultats obtenus avec la méthode de diffusion en gélose ont démontré le contraire.

conclusion

Conclusion:

De nos jours, la phytothérapie montre un intérêt de plus en plus croissant des chercheurs, des laboratoires pharmaceutiques, du corps médical et des pharmaciens associé à un renouveau de l'enseignement et à une meilleure information du publique en la matière.

D'après les résultats obtenus avec les méthodes de diffusion en gélose et la méthode de dilution en milieu liquide, on a constaté que les souches de staphylocoques coagulase- négatifs isolées de différents produits pathologiques (sperme, prélèvements vaginaux, urines, pus) montrent une sensibilité importante envers l'extrait de la plante sèche de *Ranunculus repens*.

Les valeurs de la CMI des différentes souches issues des différents produits pathologiques varient entre (1/4) et (1/20) et les diamètres des zones d'inhibition sont inversement proportionnelles a la dilution utilisée, les valeurs de la CMB obtenues pour les 7 souches testées varient entre (1/2) et (1/16).

Les résultats de l'étude statistique ont révélé que l'effet dose et l'effet souche sont hautement significatifs ($p < 0.01$) pour les souches isolées du sperme. Par contre l'effet dose est hautement significatif pour les souches isolées des prélèvements vaginaux. Et on a obtenu un effet souche hautement significatif pour les souches isolées du pus

Vu les résultats encourageants, et si les essais cliniques confirment les résultats expérimentaux, nous proposons d'utiliser l'extrait de la plante *Ranunculus repens* à des fins thérapeutiques : lotion, pommade,...etc., pour traiter les infections cutanées dues aux staphylocoques coagulase-négatifs.

Références bibliographiques :

Livres :

- [1] **AVRIL J. L., DABERNAT H., DENIS F., MONTEIL H.**, Bactériologie cliniques. 2^{ème} Edition Ellipses PARIS, 1992 .p: 10, 24.
- [2] **BERCHE P., GAILLAUD J.L., SIMONET M.**, Bacteriologie, édition FLAMARION et C, 1981 PARIS. p :595,596.
- [3] **BERGONE- BEREZIN E., BROGARD J. M.**, Abrégés : bases biologiques de l'antibiothérapie 2^{ème} Edition. MASSON, 1975.p: 28.
- [4] **BOUSSEBOUA H.**, Eléments de microbiologie générale. Edition de l'université MENTOURI, CONSTANTINE (ALGRIE), Janvier 2002.
- [5] **BRUNETON J.**, Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 2^{ème} Edition LAVOISIER, 1993. p : 226.
- [6] **BRUNETON J.**, Plantes toxiques pour l'homme et les animaux .Edition LAVOISIER, 1996 p : 404- 408.
- [7] **CARBONELLE B., DENIS F., MARMONIER A., PINON G., VARGUES R.**, Bactériologie médicale. « techniques usuelles ». Edition SIMEPS A. PARIS, 1899.p :107.
- [8] **DUVAL J., SOUSSY C-J.**, Antibiotique. 4^{ème} Edition MASSON, 1990. p: 4-9.
- [9] **NICKLIN J., GRAEME COOK K., AGET T.& KILLINGTON R.**, L'essentiel en microbiologie. Edition BERTI , 2000. p.166.
- [10] **WICHTL M., ANTON R.**, Plantes thérapeutiques, Tradition. Pratique officinale., Science et thérapeutique. Edition TEC. & DOC.LAVOISIER . PARIS. Editions médicales internationales cepham .1993.p :XXII (généralité).
- [11] **FOURNIER F.**, Plantes médicinales, 1999.p :150, 151.

Sites Internet :

- [12] [www.google.fr /médecines naturelles.com /page /santé /phytothérapie /composant. Htm.](http://www.google.fr/médecines_naturelles.com/page/santé/phytothérapie/composant.Htm)
- [13] [www.voilà.fr / www.eutraco. com / santé / les plantes / principes actifs .htm.](http://www.voilà.fr / www.eutraco. com / santé / les plantes / principes actifs .htm)
- [14] [www. microbe-edu org / etudiants / staph.htm /.](http://www.microbe-edu.org / etudiants / staph.htm /)
- [15] [www. areclin. Asso.fr/ cat / staphylocoques-dores.htm.](http://www. areclin. Asso.fr/ cat / staphylocoques-dores.htm)
- [16] [coproweb.free.fr/pag_bac / bacgem 1.htm.](http://coproweb.free.fr/pag_bac / bacgem 1.htm)
- [17] [www.cps.ca /français/enonos/ID/id94-03.htm.](http://www.cps.ca /français/enonos/ID/id94-03.htm)

- [18] [www.dictionnaire de bacteriologie veterinaire : http://www.bacterio.cict.fr/bacdic/atbq/sensibilite](http://www.bacterio.cict.fr/bacdic/atbq/sensibilite).
- [19] www.plantes-et-jardins.com.
- [20] <http://plantes.sauvages.free.fr/index.html>.
- [21] [nembre. Lycos.fr/nourad/flavonoides.html](http://nourad.lycos.fr/flavonoides.html).
- [22] www.unsa.jouy.inra.fr/rutos/flavonoides.
- [23] www.UVP5.univ-paris5.fr/micrbes/etud/Etud.Asp.
- [24] www.ANNE.decoستر.free.fr/staph/staph.htm.
- [25] http://www.infectio-lille.com/antibiotiques/conseils_atb.htm.

CD ROM:

- [26] encyclopedie mecrosoft ®encarta ®2002 ©1993-2001 microsoft corporation.

Glossaire :

A

- **Antispasmodique** : se dit d'une médication qui combat le spasme et la douleur qu'il engendre fréquemment elle agit sur les éléments du système nerveux innervant l'organe contracté .(spasme : contraction musculaire involontaire , touchant plus volontier les muscles lisses).
- **Apnée** : arrêt de la respiration par disparition de la commande nerveuse .
- **Axillaire** : relatif à l'aisselle.

B

- **Bactéricide** : se dit d'une substance qui tue les microbes.(syn . bactériolytique).
- **Bactériostatique** : se dit des antibiotiques qui inhibent la croissance et la reproduction des bactéries , sans les tuer.
- **Bradycardie** : ralentissement des battements du cœur au dessous de 60 pulsation par minute limite inférieure de la normale .

C

- **Cathéter** : instrument qui peut être une sonde , un tuyau de plastique , un stylet que l'on introduit dans un canal naturel ou dans un trajet néo-formé pour vider une collection (sondage vésical), pour instiller un liquide , pour réaliser une perfusion veineuse continue, pour explorer une fistule , pour mesurer les pressions , notamment dans les vaisseaux et dans les cavités du cœur.

- **Cloques** : ampoule, bulle de la peau, causé par une brûleur , un frottement , une maladie ; phlyctène.
- **Commensal, E, AUX** : se dit d'un germe microbien qui est , sans dommage , l'hôte Habituel d'un organe ou d'un organisme.
- **Cystite** : inflammation aiguë ou chronique de la vessie, pouvant être isolée ou au contraire le témoin d'une maladie de l'appareil urogénital.



E

- **Eczéma** :dermatose la plus fréquentes qui représente un cinquième des affections cutanées.
- **Endocardite** : inflammation de l'endocarde , due dans l'immense majorité des cas à une agression microbienne
- **Erythème** : rougeur de la peau ou des muqueuses , due à une dilatation des vaisseaux capillaires.
- **Extrait** : médicament obtenu à partir de drogue végétales sèches , par épuisement au moyen de solvants et par des méthodes déterminées , puis par évaporation de la solution obtenue jusqu'à une concentration en principe actif ou une consistance convenables.

I

- **Iatrogènes** : se dit d'un trouble , d'une maladie provoqués par un acte médical ou Par les médicaments , même en l'absence d'erreur du médecin .
- **Immunodéprimé** : qui n'a pas des réactions immunitaire normales.
- **Inguinal, E, AUX** : relatif à l'aîne .(aîne :région située de chaque coté du corps , à l'union de la cuisse et du tronc.

L

- **Léthargie** : sommeil profond , anormalement continu , sans fièvre ni infection, avec relâchement musculaire complet.

N

- **Nécrosant** : nécrose : mort tissulaire.
- **Néo- natal** : relatif aux nouveau né.
- **Nosocomiale** : se d'une infection contractée lors d'un séjour en milieu Hospitalier.

E

- **Œdème** :infiltration de sérosité (de liquide) dans les tissus de l'organisme ; et particulièrement dans les tissus conjonctifs.
- **Oncologie** : cancérologie.
- **Opportuniste** : se dit d'un germe qui ne devient pathogène que dans un organisme dont les défenses immunitaires affaiblies ; se dit de l'infection due a ce type de germe .

P

- **Périnée** : région qui limite en bas le petit bassin et en constitue le plancher , au niveau duquel sont les organes génitaux externes et l'anus .(syn.plancher pelvien).
- **Péritonite** : inflammation du péritoine .(péritoine : membrane séreuse qui tapisse les parois profondes de l'abdomen et les viscères digestifs qu'il contient).
- **Prolapsus** : chute d'un organe ou d'une partie d'organe par suite du relâchement de ses moyens de fixation
- **Pyélonéphrite** : infection de la partie supérieure des voies urinaires et du parenchyme rénal.

S

- **Septicémie** : état pathologique dû à la présence et à la multiplication de microbes dans le sang. cette présence microbienne est durable , par opposition à la bactériémie qui correspond à un passage , très bref des microbes dans le courant sanguin.
- **Shunt** :dérivation , provoquée en néphrologie , mettant en communication le circuit artériel et le circuit veineux.
- **Sternotomie** : ouverture du thorax par section du sternum , pour aborder le cœur.
- **Stomatite** :inflammation de la totalité de la muqueuse buccale.
- **Suppuré** : qui produit, qui contient du pus.

T

- **Tuméfaction** :augmentation de volume ou gonflement d'une partie du corps sans préjuger de son siège exact de sa nature.

U

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

V

- **Valve** : appareil destiné à régler le mouvement d'un fluide dans une canalisation suivant les nécessités des organes d'utilisation.
- **Vivace** : plante vivace, qui vit plus de un an grâce à son appareil végétatif , et qui fructifie plusieurs fois dans son existence.

Annexe 1:**Composition des milieux utilisés :****1) Milieu Chapman : (en gr/l).**

| | |
|----------------------------|------------|
| - Extrait de viande..... | 1 gr/l |
| - Chlorure de Sodium | 75 gr/l |
| - Peptone..... | 10 gr/l |
| - Gélose..... | 15 gr/l |
| - Mannitol..... | 10 gr/l |
| - Rouge de phénol..... | 0.025 gr/l |

2) Bouillon nutritif :

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

3) Milieu gélose nutritive :

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

4) Milieu de Muller-Hinton :

| | |
|-----------------------------------|---------|
| - Infusion de viande de bœuf..... | 300 gr |
| - Hydrolysate de caseine..... | 75.5 gr |
| - Amidon..... | 1.5 gr |
| - Gélose..... | 10 gr |

Annexe 2

Dispositif mono-factoriel en bloc

$$tCG = \frac{\left(\sum_1^{tb} x\right)^2}{t.b} \quad SCE_T = \sum x^2 - tCG$$

$$SCE_{f_e} = \frac{\sum_1^t \left(\sum_1^b x_i\right)^2}{b} = tCG$$

$$SCE_{f_c} = \frac{\sum_1^b \left(\sum_1^t x_p\right)^2}{t} - tCG$$

$$SCE = SCG_T - (SCE_{f_e} + SCE_{f_c})$$

Analyse de la variance

| $\sum CE$ | SCE | ddl | CM | F_{obs} |
|-----------|-----|------------|----------------------------|-----------------------------|
| TOT | | (t.b)-1 | | |
| f.E | | t-1 | $\frac{SCE_{f_e}}{t-1}$ | $\frac{CM_{f_e}}{CM_r} = a$ |
| f.C | | b-1 | $\frac{SCE_{f_c}}{b-1}$ | $\frac{CM_{f_c}}{CM_r} = b$ |
| r | | (t-1)(b-1) | $\frac{SCE_r}{(t-1)(b-1)}$ | |

t: nombre de traits.

b : nombre de blocs.

TCG : taux globale.

SCE : la somme des carrés des écarts.

f.E : facteurs étudiés .

f.C : facteurs contrôlés.

r : écart résiduelle.

SCE_r : la somme des carrés des écarts résiduelle.

Réalisé par : BENCHOUIEB Nadjet
MANAA Wafa
SICHE Sahima

Date de soutenance : 30/06/2003

Thème:

Détermination de la concentration minimale inhibitrice et de la concentration minimale bactéricide d'un extrait de *Ranunculus repens* vis-à-vis des *Staphylocoques coagulase-négatifs*.

المخلص:

لتأثيرها السلس، و غياب للتأثيرات الجانبية و مضادات الاستعمال، الأدوية المستخلصة من الأعشاب تمثل جوهر علاجاتنا اليومية، فعاليتها تتركز قبل كل شيء على نوعية النباتات التي تدخل في تركيبها. في عملنا هذا، استعملنا النبتة *Ranunculus repens* تحت شكل مستخلص خام المتحصل عليه بالتقنيع لتقييم نشاطها ضد البكتيريا بالنسبة إلى مختلف سلالات *staphylocoques coagulase-négatifs*. طرق الانتشار في الوسط الصلب و طريقة التخفيف في الوسط السائل بينت حساسية كبيرة إهاته السلالات بالنسبة للمستخلص الخام للنبتة *Ranunculus repens* و بهذا استطعنا إيجاد قيم CMI التي تتراوح بين (1/4) و (1/20) ، و قيم CMB المتراوحة بين (1/4) و (1/16)

Résumé :

Par la douceur de leur action, par leur absence d'effets secondaires ou de contre-indications, les médicaments issus de la phytothérapie sont nos alliés de tout les jours. Leurs efficacité repose avant tout sur le choix des plantes qui entrent dans leurs composition.

Dans le présent travail, nous avons utilisé la plante *Ranunculus repens* sous forme d'extrait brut obtenu par macération pour évaluer son activité antibactérienne vis-à-vis de différentes souches de *staphylocoques coagulase- négatifs* isolées de différents produits pathologiques.

Les méthodes de diffusion en gélose et la méthode de dilution en milieu liquide ont montré une sensibilité importantes de ces souches vis-à-vis de l'extrait brut de la plante *Ranunculus repens*. Ainsi on a pu déterminé les valeurs de la CMI qui varient entre (1/4) et (1/20), et les valeurs de la CMB variant entre (1/2) et (1/16).

The summary:

By the sweetness of their action, by their secondary effect absence or of against - indications, the medicines descended of the phytothérapie are our allies of all the days. Their efficiency rests above all on the choice of plants that enters in their composition.

In the present work we used the *Ranunculus repens* plant under shape of raw excerpt gotten by steeping to value his/her/its antibacterial activity opposite different stumps of *staphylocoques coagulase - négatifs* isolated of different pathological products.

Methods of diffusion in gélose and the method of dilution in liquid environment showed a sensitivity import these stumps opposite the raw excerpt of the *Ranunculus repens* plant. So one was able to determined values of the CMI that vary between (1/4) and (1/20), and values of the variable CMB between (1/2) and (1/16).

Mots-clés: activité anibactérienne – CMI – CMB – *Ranunculus repens* – *staphylocoques coagulase-négatifs* – plantes médicinales.

Responsable de recherche :

Madame : ROULA Sadjia