

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique
Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Biologie
Spécialité : Toxicologie et sécurité alimentaire

Présenté par :
BENSATALLAH FATIMA

Thème

**EFFET ANTIBACTERIEN D'UN LIQUIDE IONIQUE SUR
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ET ESCHERICHIA COLI**

Soutenu publiquement le 08/07/2019

| Jury | Grade |
|--|-------|
| Président: M ^{mr} METTALK | MCB |
| Encadrant: M ^{mr} FETOUHI .B | MCB |
| Co-encadrant: M ^{me} BOUBEKEUR. B | MCB |
| Examineur : M ^{me} ABDI. F.Z | MCB |

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

*Je tiens tout d'abord à remercier **Mr FETOHI B.**; pour son précieux conseils sa confiance et son aide durant toute la période du travail*

*Un merci tout spécial à Melle **BOUBAKEUR .B** pour sa bonne humeur et ses encouragements au cours de la réalisation de ce Mémoire*

Mes vif remerciement pour les membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail .

Je ne saurai terminer sans remercier toutes ces personnes qui sont dans l'ombre et dont la contribution à mon travail est non négligeable notamment tout le personnel de laboratoire, de la bibliothèque et de l'administration.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A mes très chers parents qui ont été toujours à mes cotés pour
leur générosité et leur sacrifices*

A mon cher frère

A toutes mes soeurs et leurs enfants

A tous mes amis(es) sans exception surtout

:saida ;samira ;salima ;lila.

A tous ce qui m'ont apporté d'aide de près ou de loin.

Fatima

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION GENERALE

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITE SUR LIQUIDES IONIQUE

| | |
|---|----|
| I.1. Définition | 02 |
| I.2. Structure des liquides ioniques | 02 |
| I.3. Nomenclature et acronymes des IL | 04 |
| I.4. Propriétés physico-chimiques des liquides ioniques | 04 |
| I.4.1. Stabilité thermique et point de fusion | 04 |
| I.4.2. densité et la viscosité | 05 |
| I.4.3. Solubilité | 05 |
| I.4.4. Stabilité chimique | 05 |
| I.4.5. Propriétés spécifiques pour le traitement par extraction | 06 |
| I.5. Synthèse des liquides ioniques | 06 |
| I.5.1. Réaction de quaternisation | 06 |
| I.5.2. Réaction d'échange de l'anion | 07 |
| I.6. Application des liquides ioniques | 08 |
| I.6.1. Applications en électrochimie | 08 |
| I.6.2. Applications en synthèse organique et en catalyse | 08 |
| I.6.3. Applications dans le domaine des procédés de séparation | 09 |

CHAPITRE II : ETUDE BIOLOGIQUE

| | |
|--|----|
| II.1. <i>Escherichia coli</i> | |
| II.1.1. Habitat | 10 |
| II.1.2. Taxonomie | 10 |
| II.1.3. Caractères morphologique et culturale | 11 |
| II.1.4. Pouvoir pathogène pour l'homme | 11 |
| II.2. <i>Staphylococcus aureus</i> | 11 |
| II.2.1. Historique et nomenclature | 11 |
| II.2.2. Taxonomie | 12 |
| II.2.3. Caractères morphologique et culturale | 12 |
| II.2.4. Pouvoir pathogène de <i>S. aureus</i> | 13 |
| II.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des bactéries | 13 |
| II.3.1. Technique de diffusion sur gélose Muller 1-Linton (méthode des disques) .. | |
| | 14 |
| II.3.2. La méthode de la micro dilution | 14 |

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES

| | |
|--|----|
| III.1. Objectif du travail | 15 |
| III.2. Date et lieu du travail | 15 |
| III.3. Matériels et méthodes | 15 |
| III.3.1. Matériels biologiques | 15 |
| III.3.2. Matériels et appareillages utilisés | 17 |
| III.4. protocole expérimentale | 18 |
| III.5. Préparation et standardisation des inoculas | 19 |

| | |
|--|----|
| III.6.tests de sensibilité dans le milieu solide | 19 |
|--|----|

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|--|----|
| IV.1.Résultats de vérification des souches bactériennes testées..... | 20 |
|--|----|

| | |
|--|----|
| IV.2.Résultats de l'antibiogramme de BMIMPF ₆ | 20 |
|--|----|

| | |
|---------------------------------|----|
| IV.3. Discussion générale | 23 |
|---------------------------------|----|

| | |
|---------------------------|----|
| CONCLUSION GENERALE | 24 |
|---------------------------|----|

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES.

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|-----------------------------|--|
| A(%) : | Pourcentage d'Activité Bactérienne |
| ARN : | Acide RiboNucléique |
| ATCC : | AmericanType Culture Collection |
| BMIMPF₆ : | 1-butyl-3-méthylimidazolium hexafluorophosphate |
| CA-SFM : | Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie |
| CMB : | concentration minimale bactéricide |
| CMI : | concentration minimale inhibitrice |
| D.O : | Densité Optique |
| DI : | dilution |
| DMSO : | Diméthylsulfoxyde |
| Dz : | Diamètre de zone |
| LI : | liquide ionique |
| SM : | solution mère |
| UFC : | Unité formant colonie |
| MHA : | Muller Hinton Agar |
| MHB : | Bouillon Muller Hinton |
| I(%) : | Coefficient d'Inhibition |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|--|----|
| Tableau N°1: Nomenclature utilisée pour la dénomination des cations imidazoliums..... | 04 |
| Tableau N°2 : Différents caractères bactériologiques de <i>Staphylococcus aureus</i> | 12 |
| Tableau N°3 : Souches bactériennes utilisées dans, notre expérimentation..... | 15 |
| Tableau N°4 : Appareillages, matériels et produit utilisés | 17 |
| Tableau N°5 : Les gammes du BMIMPF ₆ | 19 |
| Tableau N°6 : Résultats de vérification des souches bactériennes testées | 20 |
| Tableau N°7 : Résultats d'antibiogramme de BMIMPF ₆ 2 <i>Staphylococcus aureus</i> | 21 |
| Tableau N°8 : Résultats d'antibiogramme de BMIMPF ₆ pour <i>Escherichia coli</i> | 21 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure N°1 : Structure chimique des principaux cations des LI rencontrés dans la littérature | 03 |
| Figure N°2 : Aspect de <i>E. Coli</i> en microscopie électronique (X 20000) | 11 |
| Figure N°3 : Aspect de <i>S. aureus</i> en microscopie électronique(X 20000) | 13 |
| Figure N°4 : Aspect de liquide ionique BMIMPF ₆ | 16 |
| Figure N°5 : Protocole expérimental | 18 |
| Figure N°6 : Résultats de l'antibiogramme de BMIMPF ₆ vis-à-vis <i>S .aureus</i> | 22 |
| Figure N°7 : Résultats de l'antibiogramme de BMIMPF ₆ vis-à-vis <i>E. Coli</i> | 22 |

Introduction

Générale

Introduction générale

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections et leur développement a révolutionné le traitement des maladies infectieuses. Leur découverte a été l'une des principales causes de l'augmentation spectaculaire de l'espérance de vie moyenne durant le XX^{ème} siècle. Leur importance est d'une grande utilité pour une meilleure prise en charge de la santé Publique (**Grace Yim, 2011**). Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques. La pression de sélection exercée par l'utilisation importante de l'antibiothérapie et la diffusion épidémique des souches résistantes sont les deux facteurs principaux conditionnant (**Soussy, 2007**).

Les bactéries pathogènes comme *E.coli* et *staphylococcus aureus* sont des agents d'infections avec un fort potentiel épidémique d'acquisition et d'accumulation des facteurs de résistance.

L'échec de l'antibiothérapie à inciter l'homme à chercher d'autres sources des produits naturels et efficaces utilisé comme des nouveaux support du milieu.

Les liquides ioniques (LIs) présentent un certaines propriétés physico-chimiques qui font d'eux une classe de solvants très convoitée par rapport aux solvants classiques ; ils sont caractérisé par leur facilité de préparation, leur haute stabilité thermique (qui les placent avantageusement en solvant de choix pour les réactions à haute température) ainsi qu'une pression de vapeur saturante négligeable qui les rend non inflammables (**Jing et al .,2005**).

L'objectif de notre travail a été basé sur l'étude de l'évaluation et le comportement de l'activité antibactérienne du liquide ionique 1-butyl-3-méthylimidazolium hexafluorophosphate (BMIMPF₆) vis-à-vis de deux souches bactériennes très réponsées en pathologies infectieuses : *E. coli* ATCC 25923 et *S. aureus* ATCC 25922

Dans ce contexte notre mémoire est constitué de deux parties :

- La première est une partie bibliographique qui traitera un premier chapitre des informations d'ordre général sur Les liquides ioniques.

Un deuxième chapitre comporte une synthèse bibliographique sur les souches pathogène.

- Une deuxième partie est divisé en deux chapitres, le premier réservé aux modes opératoires et aux techniques expérimentales utilisées tout au cours de ce travail. Le deuxième chapitre rassemble l'ensemble des résultats et discussions.

Chapitre I :
Liquides ioniques

I.1. Définition

Les liquides ioniques à une température ambiante (RTILs) ont plusieurs propriétés Très intéressantes aussi bien dans le domaine académique qu'industriel. Parmi ces propriétés Nous pouvons citer leurs très faibles tensions de vaporisation (faiblement inflammable), leurs Stabilités thermiques et chimiques et leurs grandes solubilités (**Welton, 1999; Mallakpour et al., 2012**). C'est pour cela, les Ils Ont été classés comme des solvants organiques et analytiques dans les procédés de réaction et De séparation. (**Seddon, et al., 2005; Han, et al., 2007**). Principalement basés sur leur tension de vaporisation négligeable, possèdent un point de fusion inférieur à 100°C. les liquides ioniques possèdent une tension de les Liquides ioniques sont considérés potentiellement non dangereux pour l'environnement (**Ranke, et al., 2007**).

Les liquides ioniques les plus étudiés sont ceux basés sur un cation alkyl-méthylimidazolium Jumelé avec une grande variété d'anions organiques ou inorganiques. Un avantage principal Des liquides ioniques est que la sélection des actions et des anions peut être adapté pour atteindre les propriétés physiques et chimiques désirées.

I.2. Structure des liquides ioniques

Les liquides ioniques sont des sels organiques liquides se différenciant de l'ensemble des sels fondus par une température de fusion inférieure à 100°C (arbitrairement fixée en référence à la température d'ébullition de l'eau) mais un grand nombre d'entre eux sont liquides à température ambiante, appelée RTIL's («room température ionic liquids»). (**Emilie, et al., 2009**). Ces solvants sont formés par l'association de cations organiques et d'anions; avec des variations presque infinies de structures aussi bien au niveau des anions que des cations. Parmi les cations les plus étudiés, on peut citer les ammoniums quaternaires et des composés aromatiques polycycliques tels que les noyaux imidazolium et pyrrolidinium, tandis que les cations alkylpyridinium, alkylphosphonium ou alkylsulfonium sont moins fréquemment rencontrés (Figure 1).

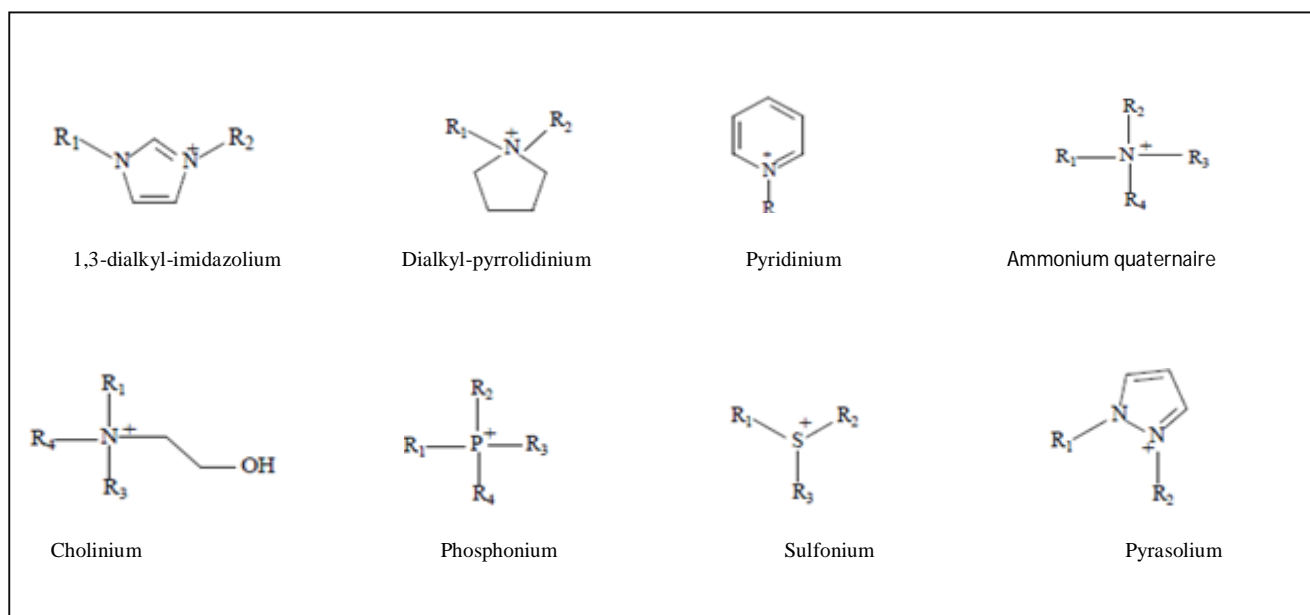


Figure N°1: Structure chimique des principaux cations des LI

Les contre ions les plus couramment utilisés sont soit des anions inorganiques tels que BF_4^- , PF_6^- , Cl^- , NO_3^- , AlCl_4^- , SbF_6^- et autres soit des anions organiques (CF_3SO_3^- , $(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{N}^-$, CF_3CO_2^- et CH_3CO_2^- et autres). Les anions tétrafluoroborate (BF_4^-) et hexafluorophosphate (PF_6^-) sont très utilisés en chimie organique ou organométallique car ils confèrent une solubilité recherchée aux espèces ioniques qui sont à la base de très nombreux sels liquides. Les LI sont regroupés en trois familles: les LI de première génération, de deuxième génération et les LI à tâche spécifique ou de troisième génération.

Dans la littérature, les liquides ioniques de première génération sont caractérisés par la nature de leurs anions qui sont des chloro aluminates. (**Emilie et al , 2009**).

En général, les liquides ioniques à anion-halogénure sont désignés comme étant ceux de première génération.

Quant aux liquides ioniques de deuxième génération appelés également liquides ioniques stables à l'air et dans l'eau, ils possèdent des anions qui sont inorganiques ou organique.

L'appartenance à la famille des liquides ioniques de troisième génération correspond à une utilisation pour une tâche spécifique plus qu'à la nature des ions qui constituent ces liquides ioniques. En effet, les liquides ioniques à tâche spécifique sont caractérisés par le fait que le cation et/ou l'anion comportent un groupe fonctionnel.

I.3. Nomenclature et acronymes des IIs

La dénomination des cations imidazolium présentés dans le tableau N°01

Tableau N°1: Nomenclature utilisée pour la dénomination des cations imidazoliums.

| Nom de cation | Acronyme | R ₁ | R ₂ | R ₃ |
|--------------------------------|----------|-------------------------------|-----------------|---------------------------------|
| 1-éthyl-3-méthylimidazolium | EMIm | CH ₃ | H | C ₂ H ₅ |
| 1-butyl-3-méthylimidazolium | BMIIm | CH ₃ | H | C ₄ H ₉ |
| 1-hexyl-3-méthylimidazolium | HMIM | CH ₃ | H | C ₆ H ₁₃ |
| 1-octyl-3-méthylimidazolium | OMIm | CH ₃ | H | C ₈ H ₁₇ |
| 1-décyl-3-méthylimidazolium | DMIIm | CH ₃ | H | C ₁₀ H ₂₁ |
| 1,3-dibutylimidazolium | BBIm | C ₄ H ₉ | H | C ₄ H ₉ |
| 1-butyl-2,3diméthylimidazolium | BMMIm | CH ₃ | CH ₃ | C ₄ H ₉ |

I.4. Propriétés physico-chimiques des liquides ioniques

Les propriétés physico-chimiques des liquides ioniques peuvent être comparées en fonction de la nature du cation, de la nature de l'anion, ou de la présence d'impuretés comme l'eau ou les ions halogénures. La description de ces propriétés sera limitée à la densité, à la viscosité et à la conductivité des liquides ioniques constitués de cations imidazolium ou ammonium, associés aux anions Tf₂N⁻, TfO⁻, PF₆⁻ ou BF₄⁻.

I.4.1. Stabilité thermique et point de fusion

Le point de fusion est un paramètre essentiel pour un liquide ionique, il a été remarqué dans de nombreuses études que sa valeur dépendrait à la fois du cation et de l'anion. Les LI, caractérisés par des températures de fusions relativement basses et des températures de décomposition élevées (350–400°C), possèdent un très large domaine de température dans lequel ils sont à l'état liquide (de l'ordre de 200-300°C) et un domaine de stabilité thermique très grand (Guezzen, 2014).

I.4.2. Densité et la viscosité

Les LIs sont en général denses et visqueux. Ils ont une viscosité qui peut atteindre dix fois celle des solvants organiques ordinaires. La viscosité des Lis peut également changer avec la composition moléculaire de l'anion, ainsi elle augmente quasi-linéairement avec la longueur de la chaîne alkyle du cation.

La densité (notée ρ) d'un liquide ionique est mesurée dans la majorité des cas par gravimétrie. La densité est la propriété physico-chimique la moins ambiguë à déterminer (Zhang et al, 2006). Pour les liquides ioniques constitués de cations imidazolium, les densités à 25°C sont généralement comprises entre 0,9 et 1,6 kg.m⁻³ (Wasserscheid et al, 2003).

I.4.3. Solubilité

Les Lis possèdent un grand pouvoir solvatant, qui leur permet de solubiliser une large gamme de composés organiques, inorganiques et également organométalliques, et sont liquides dans une large gamme de température. Ces deux dernières propriétés permettent de les envisager facilement comme solvants de réaction

La plupart des liquides ioniques sont entièrement ou partiellement miscibles avec les solvants organiques polaires (méthanol, acétonitrile, tétrahydrofurane, dichlorométhane, acétone, etc.). Des systèmes biphasés sont généralement formés avec les solvants organiques de la basse polarité (hexane, toluène, éthers alkylés,).

I.4.4. Stabilité chimique

Les liquides ioniques de deuxième génération aussi appelés liquides ioniques « stables à l'air et à l'eau », sont beaucoup plus faciles à utiliser et à stocker. Néanmoins, certains de ces liquides ioniques de deuxième génération, notamment ceux associés à des anions de types PF₆⁻, et BF₄⁻, s'hydrolysent partiellement pour former de l'acide fluorhydrique (HF), composé très corrosif et toxique. Aggarwal et coll. (Emilie, 2009).

I.4.5. Propriétés spécifiques pour le traitement par extraction

Les solvants organiques moléculaires sont les solvants les plus couramment utilisés dans les procédés de traitement par extraction liquide-liquide de métaux contenus dans une phase aqueuse. Généralement dans un tel système, un extractant est rajouté au solvant pour l'extraction du cation métallique dans la phase organique. Ces systèmes d'extraction utilisent de grands volumes de solvants organiques, qui sont, contrairement aux liquides ioniques, volatils. Des travaux ont montré que l'efficacité d'extraction et la sélectivité de certains systèmes d'extraction utilisant les liquides ioniques étaient parfois supérieures aux systèmes utilisant des solvants organiques (**Guezen, 2014**). Les liquides ioniques, contrairement aux solvants organiques classiques, ont en effet de très bonnes capacités à solvater les espèces ioniques.

I.5. Synthèse des liquides ioniques

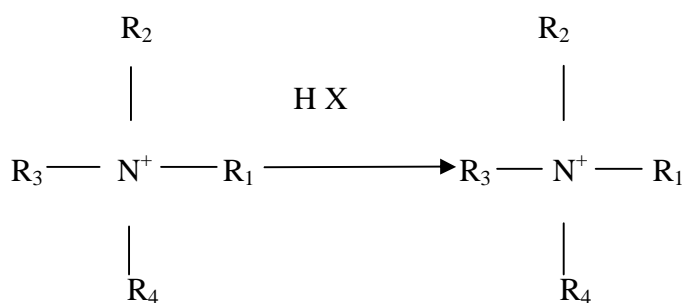
La synthèse des liquides ioniques est généralement réalisée en deux étapes :

- La première est une réaction de quaternisation afin d'obtenir le cation souhaité.
- La seconde, métathèse est une réaction d'échange d'anions.

Dans la plupart des cas, il est possible d'obtenir commercialement, et à faible coût, l'anion souhaité sous forme d'halogénure.

I.5.1. Réaction de quaternisation du noyau ammonium quaternaire

La préparation du cation peut être effectuée soit par protonation en milieu acide soit par quaternisation d'une amine par un halogénure d'alcane. La Protonation des ammoniums par un acide conduit directement aux sels d'ammonium désirés.



R1, R2, R3, R4= alkyl,

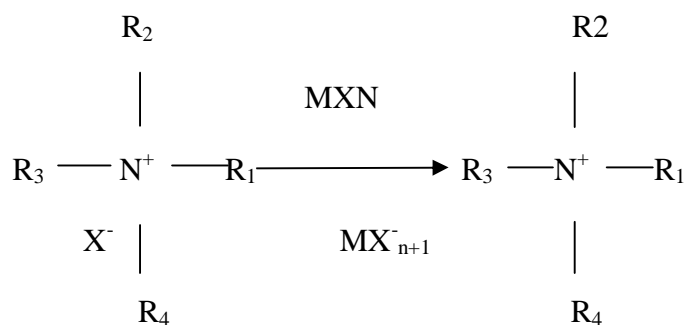
X = Cl, NO₃, BF₄, PF₆

La décantation en fin de réaction permet d'éliminer l'excès de solvant et de réactifs, les sels d'ammoniums étant généralement plus denses que les solvants organiques mais par précaution, le produit est généralement traité sous vide avant usage pour éviter toutes traces d'eau ou de produits volatils. Le cation, une fois préparé, peut être également purifié par recristallisation ou lavé avec un solvant non-miscible (**Guezzen, 2014**).

I.5.2. Réaction d'échange de l'anion

La réaction d'échange de l'anion peut se diviser en deux catégories : traitement direct du sel d'ammonium par un acide de Lewis ou réaction d'échange par métathèse d'anions.

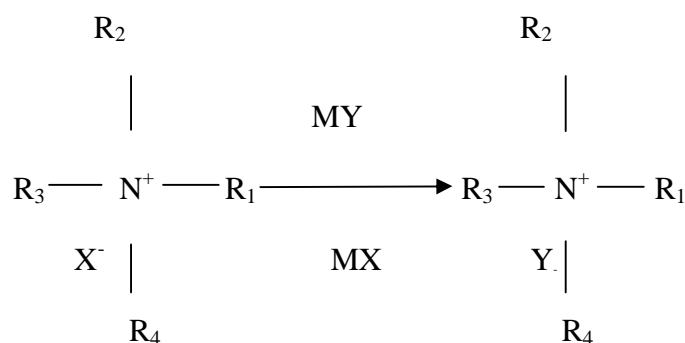
Le traitement d'un halogénure d'ammonium avec un acide de Lewis MX_n conduit à la formation d'un contre ion métallique (**Guezzen, 2014**)



$M = Al, Cu, Sn, Fe, Zn...$

Cette réaction est relativement exothermique et doit être réalisée en conditions anhydres.

Il est possible de réaliser l'échange de l'anion des sels d'ammoniums avec un autre sel inorganique.



$MY = LiNTf_2, NaOTf, NaPF_6, NaBF_4, \dots$

Cette réaction conduit aux Lis avec de hauts rendements et une très bonne pureté.

L'inconvénient de cette technique est lié à l'échange incomplet des halogénures qui peut conduire à la contamination du LI. Par conséquent, un grand soin doit être apporté lors de la phase de lavage du LI.

I.6. Application des liquides ioniques

Les liquides ioniques ont été développés il y a plus d'une vingtaine d'années dans le domaine de l'électrochimie pour la recherche de nouveaux systèmes d'énergie. Ces nouveaux milieux ont ensuite connu un grand intérêt dans les domaines de la synthèse organique et de la catalyse. Plus récemment, de nombreux chercheurs ont tenté de mettre en évidence l'intérêt des liquides ioniques dans le domaine des procédés de l'analyse, et plus particulièrement dans les sciences séparatives : l'extraction liquide-liquide, la chromatographie en phase liquide et gazeuse, et l'électrophorèse capillaire (**Guezen, 2014**).

I.6.1. Applications en électrochimie

IONMET (New ionic Liquids solvent Technology to Transform Métal Finishing Products and Process) est un réseau composé de 33 entreprises créé en 2005, et dont l'objectif vise à promouvoir les applications des liquides ioniques dans les procédés de revêtement de surfaces par les métaux

I.6.2. Applications en synthèse organique et en catalyse

La synthèse organique et la catalyse sont certainement les deux domaines en expansion dans l'utilisation des liquides ioniques. Il existe de nombreuses applications des liquides ioniques dans ces domaines. (**Baudequin et al ,2003**). D'un point de vue chimique, le principal potentiel des liquides ioniques est d'augmenter le rendement et la cinétique de la réaction. D'un point de vue pratique et économique, la grande variété de liquides ioniques permet d'améliorer les réactions selon les propriétés propres à chaque liquide. De plus, il est possible de séparer plus facilement le produit de la réaction et le catalyseur utilisé, permettant ainsi un possible recyclage des liquides ioniques

I.6.3.Applications dans le domaine des procédés de séparation

Les propriétés physico – chimiques des liquides ioniques telles que la pression de vapeur négligeable, la non-miscibilité avec d'autres solvants, et la bonne solubilité des composés organiques et inorganiques, présentent un très grand intérêt dans le domaine des procédés de séparation et de l'analyse chimique et en font un milieu de choix pour les sciences séparatives (extraction liquide- liquide...).(Berthod *et al*, 2004 et Liue *et al*, 2005)

Chapitre II :
Etude biologique

II.1. *Escherichia coli*

Isolé pour la 1^{er} fois par Escherichia en 1885, cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire, au cours de dernières décennies, le rôle de certaines catégories de *E. coli* dans les syndromes diarrhéiques a été précisé et les mécanismes de ce pouvoir pathogène ont été analysés, dans l'intestin *E. coli* est l'espèce aérobie quantitativement la plus importante, présente à raison de 10^7 à 10^9 corps bactériens par gramme de sels (**Lavril et al., 2000**).

Escherichia coli (colibacille) est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole.

II.1.1. Habitat

L'*E. coli* est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de 10^8 par gramme de fèces (flore totale : 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme).

II.1.2. Taxonomie

Selon **Kaper (2004)**, *E. coli* appartient au groupe entérique, se sont des bactéries appartenant à la :

| | |
|---------------|-------------------------|
| Règne | Bactéria |
| Embranchement | Proteobactéria |
| Classe | Gamma proteobacteria |
| Ordre | Enterobacterales |
| Famille | Enterobacteriaceae |
| Genre | Eschérichia |
| Tribu | Eschérichieae |
| Espèce type | <i>Eschérichia coli</i> |

II.1.3. Caractères morphologique et culturale

L'*E. coli* est un bacille à Gram négatif, d'une taille moyenne de 2 à 6 µm de long sur 1 à 1,5µm de large (Ferron, 1984; Pilet et al., 1987).

L'*E. Coli* est un aéro-anaérobie facultatif, il est chimio organotrophe et hétérotrophe, tire son énergie de la voie d'oxydation et de fermentation (exige des sources d'azotes et des besoins inorganiques). Ce colibacille pousse facilement sur milieu ordinaire à base d'extrait de viande (gélose nutritive), à toute la température même la plus basses (7 à 46°C), il peut croître à un pH se limitent à 9 et se maximise à 4.4 (Joseph, 1998 ; Pilet et al., 1987).



Figure N° 2: Aspect d'*E. Coli* en microscopie électronique (X 20000)

II.1.4. pouvoir pathogène Pour l'homme

E. Coli est l'un des principales bactéries responsables de diarrhée à la fois dans les pays développés et dans les pays en voie de développement.

E. Coli ; peuvent être aussi en cause des péritonites, des cholécystites, des salpingites et des suppurations postopératoire et certain infections urinaires chez femme

II. 2. *Staphylococcus aureus*

II.2.1. Historique et nomenclature

Les staphylocoques ont été identifiés dès l'aube de l'ère pasteurienne par Pasteur lui-même, Ogston et Rosenbach, et n'ont jamais cessé de susciter des recherches tant leur importance est grande en pathologie. Ce sont en effet des bactéries qui peuvent être d'inoffensifs commensaux ou provoquer des infections d'une extrême gravité ; celles-ci peuvent se présenter sous la forme de cas isolés, de petites épidémies familiales ou de graves épidémies dans les collectivités (Fleurette, 1989).

II.2.2 Taxonomie

Selon la 9^{ème} édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC, dans le phylum des firmicutes ;

- Classe : Bacilli
 Ordre : Bacillales
 Famille : Staphylococcaceae
 Genre : Staphylococcus
 Espèce : Staphylococcus aureus (**Prescott et al., 2010**).

II.2.3. Caractères morphologique et culturale

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif de forme sphérique de 0,5 à 1,5µm de diamètre; qui pousse en amas, elle résiste aussi relativement bien à la chaleur (**El Kouir, 2003 et Schaechter, et al., 1999**). Ainsi, ils sont immobiles, non sporulés, ne possédant pas de capsule

Les staphylocoques sont aérobies anaérobies facultatifs (quelques souches exigent le CO₂ pour croître), La température optimale de croissance est de 37°C et le pH optimal est de 7.5, mais de grandes variations sont tolérées (**Couture, 1990**). (Tableau 2)

Tableau N°2. Différents caractères bactériologiques de *Staphylococcus aureus* (**Prescott et al., 2010**)

| Morphologie | Regroupé en paire, tétrade ou amas réguliers Immobile ; non sporulé |
|-----------------------|--|
| Dimension (µm) | 0,5-1 |
| Teneur en GC (mol%) | 33% |
| Taille du génome (Mb) | 2,8 - 2,9 |
| Type respiratoire | Aéro anaérobie facultatif |
| Type trophique | Chimio organotrophe |
| Métabolisme | Fermentaire et /ou respiratoire |
| Autres caractères | Catalase positive – oxydase négative Halophile – mésophile (37°C) et psychrophile (6-12°C) Neutrophile pH opt=7 ; pHm ; Aw : basse, jusqu'à 0,83 |

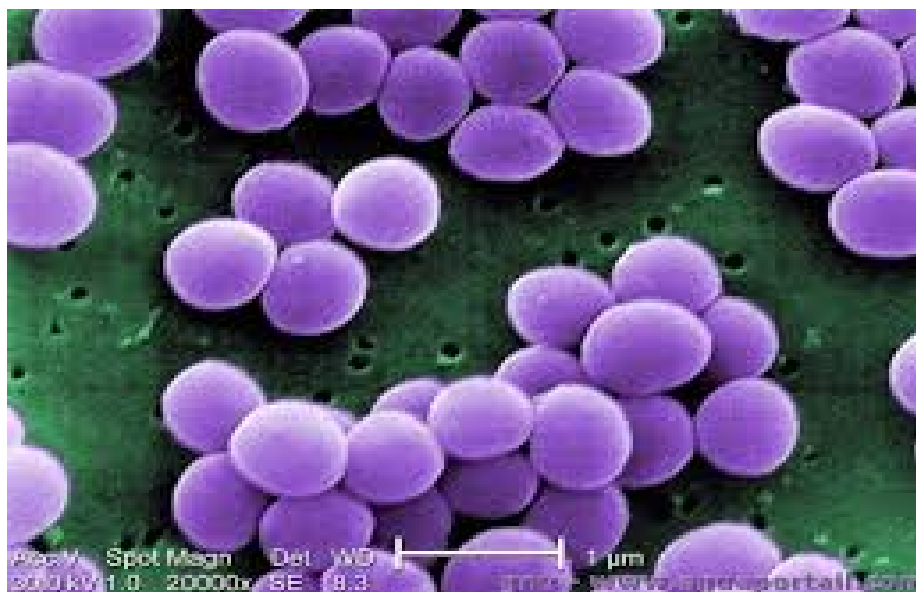


Figure N°3: Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (X 20000)
(Couture, 1990).

II.2.5. Pouvoir pathogène de *S. aureus*

S. aureus est responsable de nombreux types d'infections chez l'homme et compte parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés des infections nosocomiales et communautaires (Vincenot *et al*, 2008; Kurlenda *et al*, 2012).

Les infections suppuratives superficielles cutanéomuqueuses tels les furoncles, les folliculites, les impétigos, les sinusites et les otites sont les plus couramment rencontrées. *S. aureus* est aussi responsable de méningites, des infections respiratoires et urinaires. (Foster, 1996; Harris *et al*, 2002). En plus des infections aiguës, *S. aureus* peut provoquer des infections chroniques. La plupart d'entre elles sont dues à la capacité de ce pathogène à adhérer sur les implants médicaux temporaires (ex: cathéters) ou permanents (ex: prothèses orthopédiques, valves cardiaques) et à former un biofilm (Von Eiff *et al*, 2005; Harris *et al*, 2006).

II.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de différentes bactéries est évaluée par deux méthodes de référence:

- La technique de diffusion sur gélose Muller Hinton (méthode des disques);

- La méthode de micro dilution en milieu liquide pour déterminer les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et les Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) par la technique de Charbet

II.3.1. Technique de diffusion sur gélose Muller Hinton (méthode des disques)

L'antibiogramme permet de catégoriser une souche bactérienne en classe semi-quantitatives (Sensible S, intermédiaire I ou résistante R) et d'orienter l'antibiothérapie. Il est basé sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'antibiotique, obtenu par diffusion à partir de disques dans un milieu gélosé. L'étude de la sensibilité microbienne au BMIMPF₆ est réalisée selon la méthode décrite par (Rios *et al* 2001 et Kwakman *et al* 2008)

II.3.2. La méthode de la microdilution

➤ En milieu liquide

L'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes contenant l'antibiotique, après incubation la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique et où aucune croissance n'est visible. Cette méthode peut être réalisée en microplaque, donc automatisable (Jehl *et al*, 2005).

➤ Détermination de la CMI en milieu solide

Des dilutions de l'antibiotique à tester sont incorporées dans un milieu gélosé coulé en boîtes de pétri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches dont on veut mesurer la CMI. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par la concentration d'antibiotique présente dans la première boîte dont la culture est stérile pour la souche donnée.

Chapitre III :
Matériels et méthodes

III.1.Objectif du travail

Notre objectif repose sur l'évaluation de l'effet antibactérien de 1 butyle 3 méthyles imidzoluim hexa fluorophosphate BMIMPF₆ vis-à-vis deux souches pathogènes *staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

III.2.Date et lieu du travail

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'université « Ibn Khaldoun » de Tiaret durant la période de 17 Février au 25 Avril 2019.

III.3.Matériels et méthodes

III.3.1.Matériels biologiques

A. Souches bactériennes

Les souches bactériennes faisant objet de cette étude sont *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ces bactéries ont été fournies de l'institut vétérinaire de l'université de Tiaret. Le **tableau N°3** présente certaines caractéristiques des deux souches.

Tableau N°3 : souches bactériennes utilisées dans, notre expérimentation.

| Souches | ATCC | Gram | Famille |
|------------------------------|-------|---------|---------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 25923 | Négatif | Enterobacteriaceae |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 25922 | positif | Micrococcaceae |

B. Liquide ionique (1-butyl-3-méthylimidazolium hexafluorophosphate BMIMPF₆)

Il est un liquide visqueux de couleur jaunâtre, synthétisé par deux réactions chimiques (quaternisation et métathèse). Ce liquide ionique est formé d'un cation 1-Butyl-3-MéthylImidazolium (BMIM⁺) et un anion hexafluorophosphate (PF₆⁻) ;

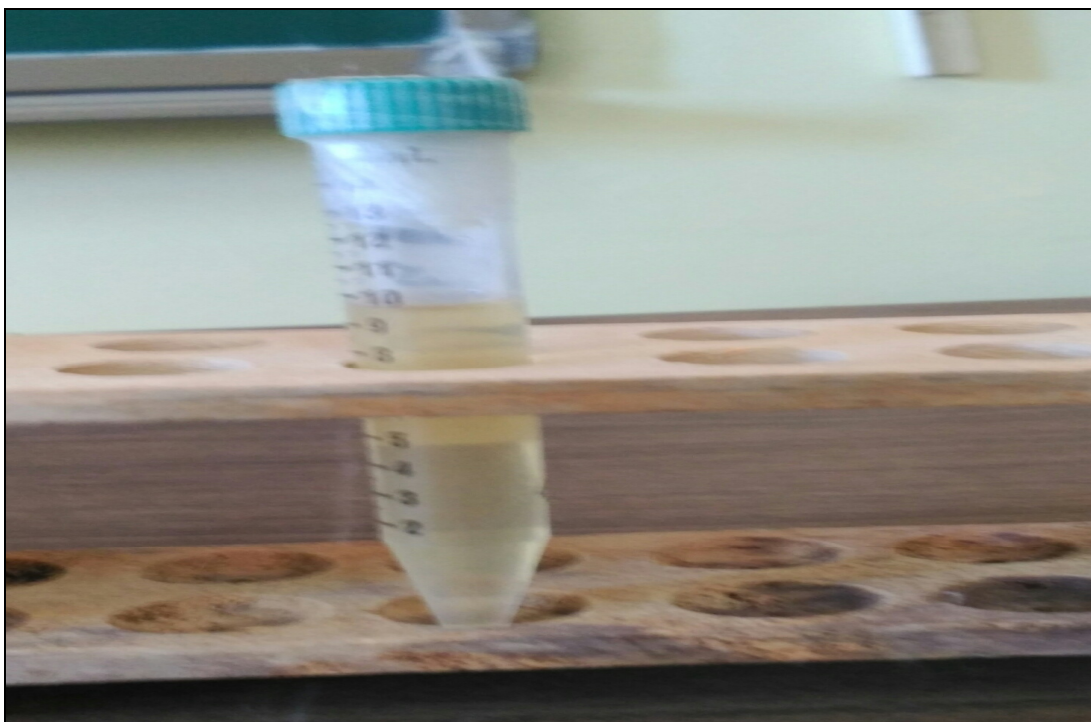


Figure N°4 : Aspect de liquide ionique BMIMPF₆

III.3.2. Matériels et appareillages utilisés

Le Matériel, les appareilles et les produits utilisés dans notre étude sont indiqués dans le **Tableau N°4**.

Tableau N°4 : Appareillages, matériel et produit utilisés

| Appareillages et verreries | Produits et Milieux de culture | Autres |
|--|--------------------------------|---------------------------|
| Agitateur << HEITO >> | Alcool | Bec bunsen |
| Autoclave << SANOCLAVE >> | Bouillon nutritif | Barreaux magnétique |
| Bain marie << HEIDOLPH >> | Chapman | Boite de pétri |
| Balance << SARATORIUS >> et << KERN >> | Eau distillée | Les embouts |
| Béchers | Fuchsine | Lance de platine |
| Broyeur électrique << CULLATI >> | Gélose nutritif | Pince en bois |
| Entonnoirs | L'huile d'immersion | Pissettes |
| Eprouvettes | Muller Hinton << gélose >> | Portoir des tubes à essai |
| Etuve << MEMMERT >> et << HERUS >> | Solution de violet de gentiane | flacons |
| Four pasteur << HERAEUS >> | Solution de lugol | |
| Lames et lamelles | | |
| Micropipette de 100 et 1000µm | | |
| Microscope optique << OPTIKA >> | | |
| Plaque chauffante << IKA >> | | |
| Pipettes graduées et de pasteur | | |
| Réfrigérateur | | |
| Spectrophotomètre << JENWAY >> | | |
| Vortex | | |

III.4 Protocol expérimentale :

La démarche de notre étude est exprimée par le protocole ci-dessous (la figure)

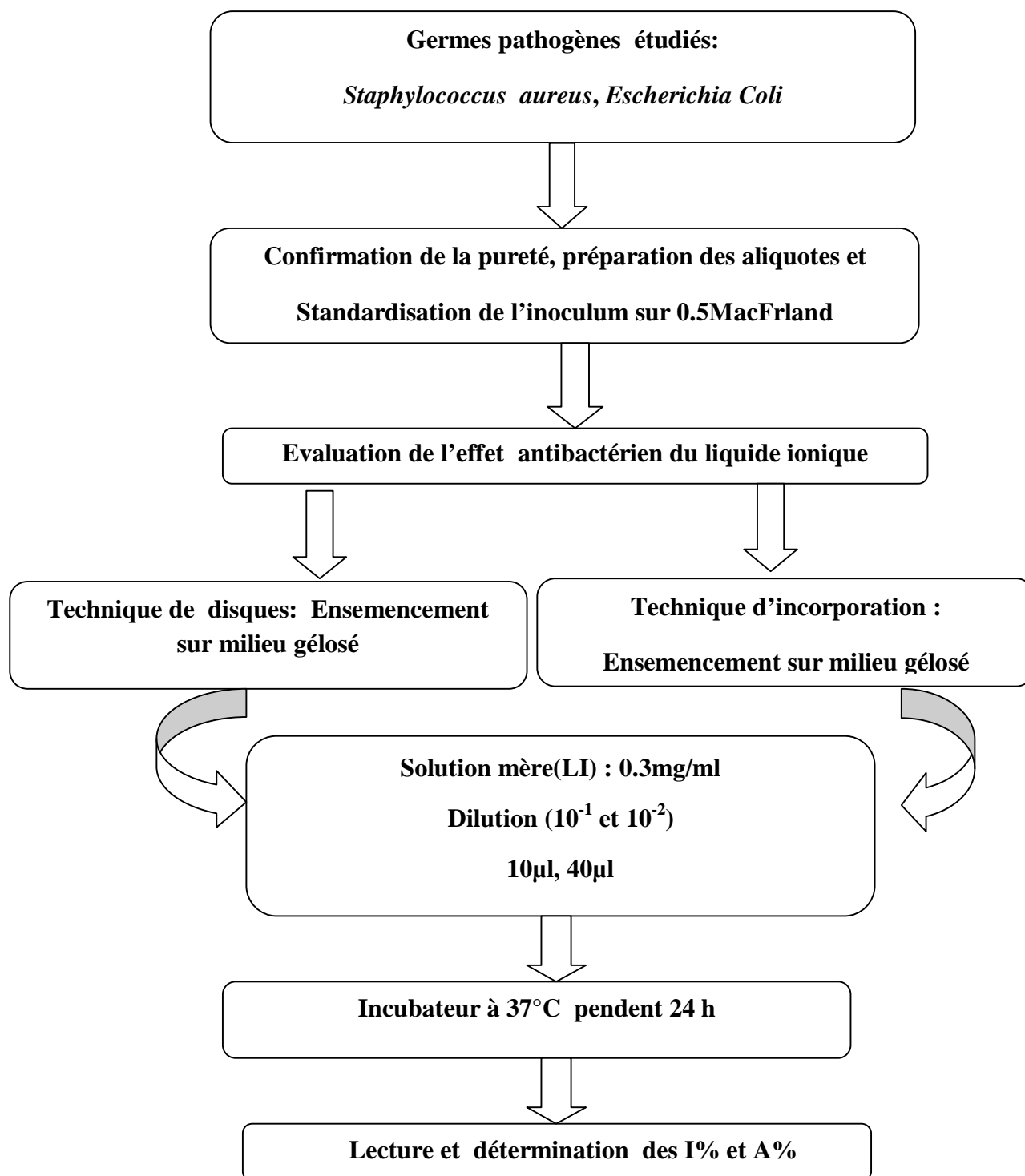


Figure N°5: Protocole expérimental

III.5.Préparation et standardisation des inocula

On fait un repiquage des souches sur milieu Chapman pour *staphylococcus aureus* et Mackonky pour *Escherichia coli* chaque 24 h pour obtenir des cultures jeunes.

Les inocula ont été préparés dans un bouillon nutritif et standardisé sur l'échelle 0.5MacFarland à 10^6 germes/ml.

III.6.Tests de sensibilité sur milieu solide

- ✓ Couler les boîtes des pétré avec un volume de gélose Muller Hinton préalablement liquéfié.
- ✓ Après solidification du milieu, réaliser un ensemencement en surface de 100 μ l de suspension bactérienne, laisser sécher les boîtes pendant 20 minutes.
- ✓ Appliquer les disques à l'aide d'une pince stérile sur les boites.
- ✓ Avec micropipette on ajoute les volumes de BMIMPF₆ sur les disques, les volumes sont indiqués dans le tableau N°6
- ✓ L'ensemble des boites est incubé à 37C° pendant 18-24h.
- ✓ Les pourcentages d'inhibition et les activités des germes ont été calculés selon la formule de **Boubakeur et al. (2016)** :

$$I\% = (Dz/Dboite) \times 100$$

$$A\% = 100 - I\%$$

Tableau N°5 : Les gammes du BMIMPF₆

| Echantillon | Dilution et volume |
|---------------------|--|
| BMIMPF ₆ | Dilution (10^{-1} et 10^{-2}) 10 μ l, 40 μ l |
| | Solution mère(LI) 10 μ l, 40 μ l |

Chapitre IV :

Résultats et discussions

IV.1. Résultats de vérification des souches bactériennes testées

Les résultats de vérification des souches par la méthode de coloration de Gram sont présentés dans le tableau N°6.

Tableau N°6 : Résultats de vérification des souches bactériennes testées.

| Souches | Description |
|------------------------------|---|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Staphylococcus aureus est une bactérie Gram positif qui présente une forme de coque, associée par groupes en amas (grappe de raisin) ou en chaînes. |
| <i>Escherichia Coli</i> | Escherichia Coli est une bactérie Gram négatif qui présente une forme circulaire de taille irrégulière |

Les résultats de la coloration de Gram obtenus ont confirmé les caractéristiques et la pureté des deux souches.

IV.2. résultats de l'antibiogramme de BMIMPF₆

Les tests de sensibilité au BMIMPF₆ des germes étudiés, ont été réalisés par la méthode d'incorporation et le tableau N°7 et N°8 résume l'ensemble des résultats obtenus.

Tableau N°7 : Résultats d'antibiogramme de BMIMPF₆ pour *Staphylococcus aureus*

| Souche | <i>Staphylococcus aureus</i> | | | | | | | | | |
|----------------|------------------------------|-------|------------------|-------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| volume | dilutions | | | | Solution mère | | | | DMSO | |
| | 10 ⁻¹ | | 10 ⁻² | | 10µl | | 40µl | | 10µl | |
| concentrations | 0,15 | | 0,07 | | 0,3 | | 0,3 | | 0,1 | |
| I% (I1-I2) | 11,76 | 11,77 | 17,64 | 17,66 | 17,64 | 23,52 | 14,11 | 14,12 | 9,41 | 9,41 |
| A% | 88,24 | 88,23 | 82,54 | 82,34 | 82,36 | 76,5 | 85,11 | 85,89 | 90,59 | 90,59 |

Tableau N°8 : Résultats d'antibiogramme de BMIMPF₆ pour *Escherichia coli*

| Souche | <i>Escherichia coli</i> | | | | | | | | | |
|----------------|-------------------------|-------|------------------|-------|---------------|-------|-------|------|------|------|
| volume | dilutions | | | | Solution mère | | | | DMSO | |
| | 10 ⁻¹ | | 10 ⁻² | | 10µl | | 40µl | | 10µl | |
| concentrations | 0,15 | | 0,07 | | 0,3 | | 0,3 | | 0,1 | |
| I% (I1-I2) | 35,29 | 35,30 | 27,12 | 27,12 | 27,05 | 41,17 | 58,82 | 64,7 | 11,7 | 11,7 |
| A% | 64,71 | 64,71 | 72,94 | 72,94 | 72,94 | 58,82 | 41,18 | 35,3 | 88,2 | 88,2 |

Les photos N°1 et 2 montrent les résultats de l'antibiogramme du LI

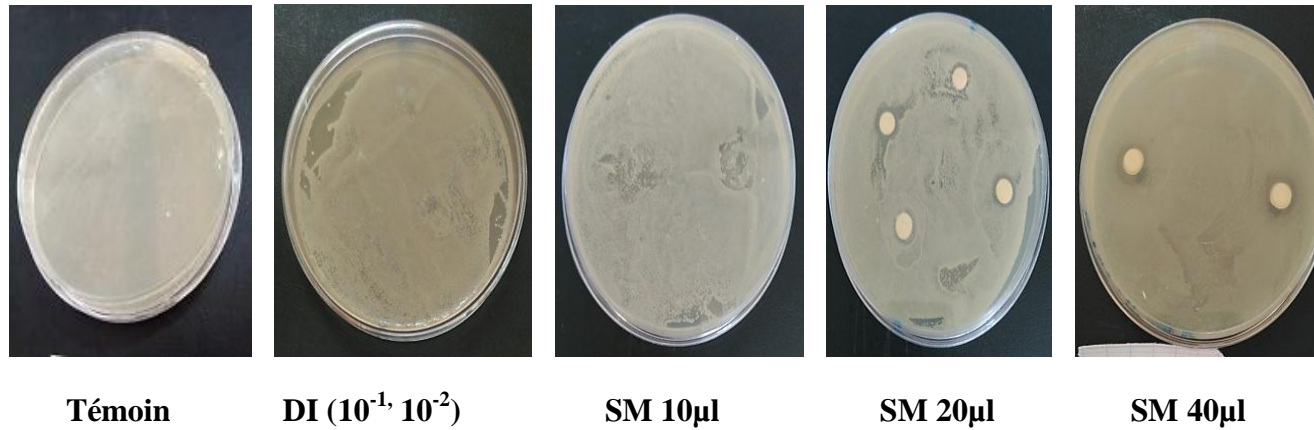


Figure N°6 : Résultats de l'antibiogramme de BMIMPF₆ vis-à-vis *S. aureus*

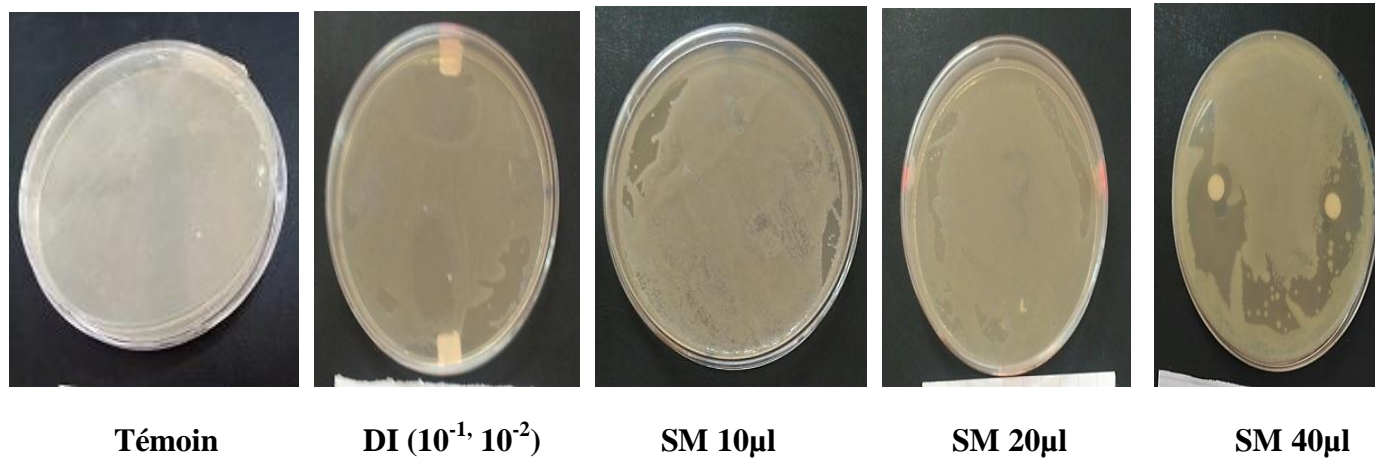


Figure N°7 : Résultats de l'antibiogramme de BMIMPF₆ vis-à-vis *E. coli*

Discussion générale

Les résultats de l'activité antibactérienne in vitro obtenus par la méthode d'incorporation dans la gélose montrent que l'effet antibactérien de LI testés varie en fonction de la bactérie cible, le volume et la concentration.

Le liquide ionique montre une activité antibactérienne modeste contre *S. aureus* mais à des degrés différents par exemple à des volumes de dilutions (10^{-1} , 10^{-2}) on a observé une légère croissance des colonies de *S. aureus*, cette bactérie est inhibé partiellement à un volume de 10ul, 20ul et 40ul.

Pour *E. coli* on a observé la présence de certaines colonies à des dilutions de 10^{-1} , 10^{-2} . L'inhibition considérable de ce germe est observée à un volume de 20ul et 40ul de la solution mère.

Ces résultats montrent que LI(BMIMPF6) à un effet d'inhibition considérable contre *E. coli* par rapport à *S.aureus*.

Le BMIMPF6 possède un grand potentiel comme agent antimicrobien contre certain microorganisme pathogènes, il peut utiliser en médecine alternative pour le traitement de certaines infections bactériennes. Les résultats de cette étude montrent que les bactéries Gram négatif (*E. coli*) est plus résistante aux LI BMIMPF6 par rapport à la bactérie Gram positif (*S. aureus*) qui est plus sensible.

Une détermination des concentrations minimales et bactéricide de ce liquide contre les deux souches est très recommandée pour bien discuter son effet antibactérien.

Conclusion

Générale

CONCLUSION GENERALE

Les bienfaits des substances naturelles et chimiques sont multiples et différentes selon leur nature et leur type. En effet depuis l'antiquité ont été utilisées comme des remèdes de plusieurs pathologies et maladies dans la santé humaine.

Cependant notre travail s'intéresse à l'étude de l'effet antibactérien de 1-butyle-3-méthyle imidazolium Hexa fluorophosphate BMIMPF₆.

Afin d'évaluer cet effet des tests antibactériens ont été réalisés avec deux variétés des germes pathogènes.

Les résultats obtenus ont montré que LI(BMIMPF₆) a une efficacité considérable vis-à-vis des deux souches testées. Le meilleur pourcentage d'inhibition observé contre E. coli est 64,7.% et contre S. aureus 23,52 %

De ce qui précède, on suggère la possibilité d'utiliser ce produit comme agent antimicrobien pour la guérison de certaines maladies touchant la santé de l'être humain et comme alternative à l'utilisation des antibiotiques.

D'autres études restent nécessaires pour identifier les composants du LI BMIMPF₆ qui sont responsable de l'activité antimicrobienne.

Références

Bibliographiaues

- 📖 **Baudequin, C., Baudoux, J., Levillain, J., Cahard, D., Gaumont, A-C (2003).** Ionic liquids and chirality: opportunities and challenges, *Tetrahedron : Asymmetry*, 14, 3081-3093
- 📖 **Berthod, A., & Carda-Broch, S., (2004).** Utilisation des liquides ioniques en analyse. *ACTUALITE CHIMIQUE*, (1), 24-30.
- 📖 **Boubakeur, B., Tirtouil, A., Khadem, H., Meddah, B., & Ahcen, S, (2016)**An Assessment of the Effect of Aqueous Extract from *Thymus fontanesii* on Growth , *Aggregation and Biofilm Formation of Pathogenic and Probiotic bacteria*. 6(7), 51–60.
- 📖 **Brahim Guezzen, (2014).** thèse de Doctorat: Les Liquides Ioniques & Le D2EHPA/TBP dans L'extraction Liquide de Zn(II), Cd(II) & Hg(II), 2014, Université de Tlemcen, Algérie
- 📖 **Couture, B., (1990).** Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris. 15-32
- 📖 **Emilie Jobin, Thèse Doctorat, (2009)** .Extraction d'actinides et de lanthanides par des liquides ioniques, fonctionnalisés ou non, Université de Strasbourg, France
- 📖 **El Kouir, D. P, (2003).** Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. EMC, maladies infectieuses, [8-007-A-10
- 📖 **Ferron, A., (1984).** Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12^{ème} édition. CROUAN et ROQUES, Paris. 87-94.
- 📖 **Fleurette , J., (1989)** Staphylocoques et Microcoques. In Bactériologie médicale. 2^{ème} édition. Paris : Médecine-Sciences. Flammarion ; p 773
- 📖 **Foster, T., (1996)** .Staphylococcus. In: S. Baron, Editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX). University of Texas Medical Branch at Galveston.
- 📖 **Grace Yim, (2011).** L'Attaque des superbactéries: Résistance aux antibiotiques. The ScienceCreative Quarterly. Issue Six. Lapsus Nivium.
- 📖 **Harris, L. G, S. J. Foster et R. G. Richards. (2002).** An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: review. *Eur. Cells Mater.* 4: 39-60.
- 📖 **Harris, L. G. et R. G. Richards. (2006).** Staphylococci and implants surfaces: a review.
- 📖 *Injury, Int. J. Care Injured* 37: S3-S14
- 📖 **Joseph, G., P0, (1998)** Microbiologie alimentaire édition Dunod-paris
- 📖 **Jehl, F., Chabaud, A., Grillon, A., (2015)** L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? *Journal des Anti-infectieux* 17, 125—139.
- 📖 **Jing-fu, J., .Jonsson, A., Gui-Bin, J., (2005)** .Application of ionic liquids in analytical chemistry, *Trends in Analytical chemistry*, 24(1), (2005), 1-74.
- 📖 **Kurlenda, J. et M. Grinholc. (2012).** Alternative therapies in *Staphylococcus aureus*

- diseases. *Acta Biochim. Pol.* **59**:171-184.
- 📖 **Lavril, J., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H., (2000).** Bactériologie clinique 3^{ème} édition Ellipses.
- 📖 **Liu, J., Jiang, G., Aake Jönsson, J., (2005).** Application of ionic liquids in analytical chemistry », *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 24, no 1, p. 20–27. no 9, p. 2892–2902.
- 📖 **Mallakpour, S., & Dinari, M., (2012).** Ionic liquids as green solvents: progress and Prospects. In *Green Solvents II* (pp. 1-32). Springer Netherlands.
- 📖 **Prescott, L.M, Harley, J.P., Klein, D., (2010).** Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université
- 📖 **Ranke, J., Stolte, S., Störmann, R., Arning, J., & Jastorff, B., (2007).** Design of sustainable chemical products the example of ionic liquids. *Chemical Reviews*, 107(6) 2183-2206.
- 📖 **Ranke, J., Molter, K., Stock, F., Bottin-Weber, U., Poczobutt, J., Hoffmann, J., (2004)** Biological effects of imidazolium ionic liquids with varying chain lengths in acute *Vibrio fischeri* and WST-1 cell viability assays *Vol.58,3 pp,396-404.*
- 📖 **Soussy, C-J., (2007).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. P: 21-46.
- 📖 **Seddon, K, R., & Rogers, R. D., (2005).** Ionic liquids III: fundamentals, progress, challenges, and opportunities. American Chemical Society
- 📖 **Schaechter, M., (1999).** Medoff G, Eisenstein Barry I. Microbiologie et pathologie infectieuse. De Boeck Université, Paris Bruxelles ; p188-189.
- 📖 **Vincenot, F., Saleh, M., Prévost, G., (2008).** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Rev. Fr. Labo.* 407: 61-69
- 📖 **Wasserscheid, P., and T. Welton, *Ionic Liquids in Synthesis* (2003).** Weinheim: Wiley-VCH.
- 📖 **Welton, T., (1999).** Room-temperature ionic liquids. Solvents for synthesis and catalysis. *Chemical reviews*, 99(8), 2071-2084.
- 📖 **Zhang, S.J., et al., *Physical properties of ionic liquids* (2006).** *Database and evaluation.* *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, **35**(4): p. 1475-1517

Annexes

ANNEXES N°01

Composition de milieu de culture

Gélose Chapman : pH 7.4

| | |
|---|----------|
| Extrait de viande (bovine ou porcine..... | 1g/L |
| Peptone de caséines et de viande | 10g/L |
| Chlorure de Sodium | 75g/L |
| D-Mannitol | 10g/L |
| Agar | 15g/L |
| Rouge de phénol..... | 0,025g/L |

Mueller-Hinton (solide) pH : 7,2- 7.4

| | |
|---------------------------------|-------|
| Infusion de viande de bœuf..... | 0 ,2g |
| Hydrolysate de Caséine | 17.5g |
| Amidon | 1,5 g |
| Agar | 10g |

Mueller-Hinton (liquide)

| | |
|-----------------------------------|-------|
| Infusion de viande de boeuf | 300g |
| Hydrolysate de caséine | 17,5g |
| Amidon | 1,5g |
| Gélose..... | 17,0g |

Gélose Mac Conkey pH :7,1

| | |
|----------------------|--------|
| Peptone | 20,0g |
| Sucre | 10,0g |
| sels biliaires | 31,5 g |

Annexes

| | |
|--------------------------|----------------|
| cristal violet | 0,001 g |
| rouge neutre | 0,05 g |
| chlorure de sodium | 5,0 g |
| Agar-agar | 15,0 g |

ANNEXES N°02

Méthode de Mac Far land

Procédure

Préparer l'étalon 0,5 Mc Farland en versant 0,5 ml d'une solution de BaCl₂ dihydraté à 1% (10g/l), dans une éprouvette de 100ml. Compléter à 100ml avec du H₂SO₄ à 1% (10ml/l). ainsi préparé, il doit avoir une D.O. de 0,08 à 0,1 lue à 625nm.

Aliquoter 1 solution en volumes de 10ml, dans des tubes identiques à ceux qui serviront à la préparation des inoculums (le nombre d'aliquots sera en fonction du nombre de manipulateurs).

Sceller ces tubes de façon à éviter toute évaporation (parafilm, ruban adhésif,....)

Répérer le niveau du liquide à l'aide d'un marqueur, et le contrôler régulièrement en prenant la densité optique.

Conserver les tubes à température ambiante, et à l'abri de la lumière (papier aluminium).

Homogénéiser le tube étalon avant de le comparer à l'inoculum préparé :

Inoculum et étalon avoir la même turbidité lorsqu'ils sont examinés sur un fond rayé. (Andrews et al., 2008).

Résumé

La présente étude est une contribution à l'évaluation de l'effet l'antibactérien de liquide ionique sur deux souches bactériennes à caractère pathogène (*S.aureus*, et *E.Coli*).

Nous avons choisi pour cette étude 1 butyle 3 méthyle imidazolium hexa fluorophosphate comme un liquide ionique.

Notre étude est basée sur l'évaluation de l'effet antibactérien par la méthode d'incorporation sur milieu solide afin de déterminer les différents paramètres d'inhibition (A% et I%). Les résultats obtenus montrent clairement l'impact du BMIMPF₆ sur la sensibilité bactérienne.

Mots clés : Liquide ionique, Effet antibactérien, bactères pathogènes, A% ,I%,*Staphylococcus aureus* ,*Echérchia Coli* .

ملخص

يتناول هذا العمل التأثير المضاد للبكتيريا للسائل الأيوني ضد نوعين من البكتيريا الممرضة *Staphylococcus aureus* ,*Echérchia Coll* لقد تم اختيار في هذه الدراسة كسائل أيوني 1 butyle 3 méthyle imidazolium hexa fluorophosphate الطريقة المستخدمة في هذه الدراسة مبنية على طريقة الادمج وذلك من أجل تحديد عوامل التثبيط (A% et I%) النتائج المحصل عليها بينت بوضوح الأثر الفعال للسائل الأيوني ضد البكتيريا .

الكلمات الجوهرية: سائل أيوني، نشاط الضد البكتيري، بكتيريا ممرضة، *Staphylococcus aureus* *Echérchia Coli*, (A% et I%)