

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département 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 : Sciences biologiques

Spécialité : Infectiologie

Présenté par :

KOUADRIA Safia

LEBBAR Amira

DJAOUI Ghania

Thème

*Effet de *Peganum harmala* sur le *Corynebacterium pseudotuberculosis* responsable de la lymphadénite caséuse*

Soutenu publiquement le ...30 septembre 2020.....

Grade

Président : Dr. HEMIDA Houari (MCA).
Encadrant : Dr . CHIKHAOUI Mira(MCA)
Co-encadrant : Dr. BOUMEZRAG Assia(MCB)
Examineur 1 : Dr. LARADJ ZAZOU Khalida (MAB)

Année universitaire 2019-2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

A Allah le Tout Puissant, Maître du temps et des circonstances, plein d'amour, de tendresse et de bonté.

La présente étude n'aurait pas été possible sans le bienveillant soutien de certaines personnes.

Et je ne suis pas non plus capable de dire dans les mots qui conviennent, le rôle qu'elles ont pu jouer à mes côtés pour en arriver là.

Cependant, je voudrais les prier d'accueillir ici tous mes sentiments de gratitude qui viennent du fond de mon cœur, en acceptant mes remerciements.

Mes premiers remerciements vont d'abord à mon encadreur, le docteur CHIKHAOUI Mira ainsi qu'à notre Co- encadreur Docteur Boumezzrag Assia, qui nous ont accompagné tout au long de notre formation. Leur disponibilité ; générosité et le réconfort dont l'apport nous a été laborieux voire salvateur quand notre recherche s'est heurtée aux obstacles techniques,

Nous vous en sommes infiniment reconnaissantes ;

Notre vive reconnaissance va au Docteur HEMIDA Houari de l'Institut vétérinaire de Tiaret d'avoir accepté de présider le jury de soutenance de ce mémoire, ainsi qu'au Dr LARREDJ ZAZOU Kalida du département des sciences de la nature et de la vie d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie tous le personnel du laboratoire de microbiologie pour leur aide précieuse.

Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail et que je n'ai pas mentionné par son nom, trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie...A
Toi ma Maman Chérie Samia Haddou qui m'a apporté son appui durant toute*

Ma vie, notamment pendant mon cursus scolaire et universitaire,

*Je te serai toujours redevable pour ton abnégation, ton altruisme et ton
inaltérable soutien que Tu m'as si magnanimement prodigué en me donnant*

confiance, courage et Opiniâtreté.

*A Toi mon Très cher et Noble Papa Abdelrahman Lebbar...Autant de phrases et
d'expressions aussi éloquents soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude, ma*

reconnaissance et mon affection que je te voue !

*A Toi mon très cher frère Rafik lebbar pour ton indéfectible soutien et
encouragements tout au long de la réalisation de ce travail.*

*A toute ma famille, Sarah, mes chères tantes faiza et linda A mes
meilleures Amies que j'aime beaucoup*

Amira

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

- *À ma chère maman pour son soutien, son aide, ses encouragements et ses conseils, elle m'a toujours encouragée, même dans les moments les plus difficiles. Sans toi, je n'aurais pas pu ni su mener a bon port la gondole de mes rêves. A*
- *Mon Très cher père qui a su m'étayer, me soutenir, me motiver et m'orienter dans mes choix m'en encourageant indéfectiblement et généreusement à aller de l'avant*
- *À mon cher frère Islam*
- *À une merveilleuse femme : Ait AMARA Najiba*
- *À MBENAISSA ET Mme ALI Mahdjouba*
- *À toute ma famille les : KOUADRIA , HASSANE*
- *A mes meilleures amies que j'aime beaucoup Alia , Meriem, Amira , KHalidia*

Safia

Dédicaces

A la mémoire de ma mère Allah yerhamha pour m'avoir donné la vie et la joie de vivre. Vos conseils et bénédictions n'ont jamais fait défaut, que Dieu le tout puissant vous accorde son paradis éternel (amin).

Papa Omar Djaoui qui m'accompagne partout par ses prières que Dieu me la garde,

A mes frères Lahcen Mohamed que j'aime énormément.

A mes sœurs, de leur soutien, aide, encouragement et de leurs conseils.

A mon très cher neveu Islem Allah yerhmou qui m'ont porté bonheur.

Je leur dis que sur la terre. Ils sont mon paradis, Je les aime. Qu' Allah vous bénisse et vous protège.

Ghania

Table des matières

Table des matières

Liste des abréviations	V
Liste des figures	VI
Liste des tableaux.....	XI
Liste des photos.....	XI
Introduction.....	1
Objectif	2

Chapitre 1: Synthèse Bibliographique

I.1. Introduction.....	2
I.2. Étiologie.....	3
I.2.1. Taxonomie	3
I.2.2. Habitat.....	3
I.2.3. Caractères bactériologiques	3
I.2.3.1. Caractères morphologiques	3
I.2.3.2. Caractères cultureux	4
I.2.3.3. Caractères biochimiques.....	5
I.3. Physiopathologie	5
I.4. Symptômes.....	5
I.4.1. Forme superficielle ou cutanée	6
I.4.2. Forme viscérale	7
I.5. Diagnostic	8
I.6. Traitement.....	8
I.6.1. Antibiothérapie.....	8
I.6.2. Parage des abcès.....	9
I.7. Prophylaxie	9

Chapitre II : *Peganum harmala* et composés phénoliques

I.1. Généralités sur <i>Peganum harmala</i> L.....	10
I.1.1. Description botanique.....	11
I.2.1. Taxonomie	11
I.1.3. Nomenclature	11
I.1.4. Distribution géographique	11
I.1.5. Principes actifs majeur	12
I.1.6. Utilisations	11
I.1.7. Toxicité de la plante	12
I.2. Composés phénoliques	12
I.2.1. Définition	12
I.2.2. Classification.....	13
I.2.3. Biosynthèse des polyphénols	14
I.2.3.1. Voie de l'acide shikimique	14
I.2.3.2. Voie de l'acide malonique « Malonyl Pathway ».....	15
I.2.4. Effets biologiques des polyphénols	15
I.2.4.1. Effet anti-allergique.....	16
I.2.4.2. Effet anti-inflammatoire	16
I.2.4.3. Effet anti-ulcère.....	17
I.2.5. Activités thérapeutiques polyphénols	17
I.2.5.1. Prévention des maladies cardiovasculaires	17
I.2.5.2. Prévention des maladies hormono-dépendantes.....	17
I.2.5.3. Activité anticancéreuse.....	18
I.2.5.4. Activité antimicrobienne	18

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Objectifs du travail.....	20
I.2. Lieu et durée de l'étude.....	20
I.3. Matériels.....	20
I.3.1. Matériel végétal.....	20
I.3.2. Matériel biologique.....	20
I.3.3. Matériels de laboratoire.....	21
I.4. Méthodes.....	22
I.4.1. Extraction des composés phénoliques.....	22
I.4.1.1. Calcul du rendement d'extraction.....	23
I.4.3.2 Identification bactérienne.....	24
I.4.3.2.1. Examen macroscopique.....	24
I.4.3.2.2. Examen microscopique.....	24
I.4.3.2.1. Examen biochimique.....	24
1. Test de la catalase.....	24
2. Test de l'uréase.....	24
I.4.3.3. Activité antibactérienne.....	25
I.4.3.3.1. Antibiogramme standard.....	25
I.4.3.3.2. Activité antibactérienne des extraits phénolique.....	25

Chapitre III : Resultats et discussion

1 .1. Extraction des composées phénolique	27
1.1.1. Rendement d'extraction	27
1.2. Activité antibactérienne.....	28
1.2.1. Evaluation l'activité antibactérienne	29
1.2.2.1. Méthode de diffusion.....	29
Discussion.....	31
Conclusion	
Reference bibliographiques	
Annexes	

LISTE DES ABBREVIATIONS

LC:	Lymphadénite caséuse
Mm :	Millimètre
MI :	Millilitre
Mg :	Milligramme
<i>C.pseudotuberculosis</i> :	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>
<i>S.aureus</i> :	<i>Staphylococcus aureus</i> .
<i>P.harmala</i> :	<i>Peganum harmala</i>
DMSO :	diméthylsulfoxyde
G :	Gramme
DMSO :	Diméthylesulfoxyde
µl :	Microlitre
ug :	Microgramme
mcg :	Microgramme
Cm :	Centimètre
ATB :	Antibiotique
SARM:	<i>staphylococcus auréus</i> résistant à la meticilline
CoA :	L'acetyl-coenzyme A
PAL :	La phénylalanine ammonia-lyase
PEP :	L'acide phospho-énol-pyruvique
DHAP :	Phosphodihydroxy-acétone
AMP :	Adénosine monophosphate
ATP :	Adénosine-Triphosphate
QR :	Quinone réductase
GST :	Glutathion S-transférase et
UDP :	l'uridine diphosphate
UGT :	Glucuronosyl transférase
PAF:	Le facteur d'activation plaquettaire
ADN :	L'acide désoxyribonucléique

L I S T E D E S T A B L E A U X

Tableau 1 : Structure des squelettes des polyphénols	14
Tableau 2 : Mode d'action de quelques composés phénoliques	19
Tableau3 : Matériel de laboratoire et produits utilisés.....	22
Tableau 4 : Tests de pré-identification des souches de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	30
Tableau 5 : Diamètre des zones d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes étudiées (en mm).....	31
Tableau 6 : Diamètres des zones d'inhibition des souches étudiées en mm en fonction des concentrations des trois extraits des graines de Peganum	32

Résumé :

La lymphadénite caséuse est une maladie infectieuse causée par la bactérie *Corynebacterium pseudotuberculosis*, qui affecte le système lymphatique, entraînant des abcès dans les ganglions lymphatiques et les organes internes. Elle est observée chez les chèvres et les moutons.

Peganum harmala (le harmal) est une plante médicinale de la famille des Zygophyllacées, assez riche en constituants chimiques tels que les Acides aminés, les Flavonoïdes, les pigments et les alcaloïdes. Le but de cette étude est l'évaluation de l'effet des extraits des graines de *Peganum harmala* sur *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Notre étude a donné des résultats très prometteurs en ce qui concerne l'efficacité des extraits sur les radicaux libres et les souches bactériennes. Les plantes médicinales constituent une source immense de molécules bioactives, dotées de nombreuses activités. Les effets des extraits ont été comparés à ceux des antibiotiques, par la méthode de diffusion en milieu solide (disque). Les deux extraits éthanolique et méthanolique ont montré une activité antibactérienne plus élevée sur le *Corynebacterium pseudotuberculosis* par rapport à l'extrait aqueux. Ces résultats apportent un appui scientifique quant à l'utilisation traditionnelle de ces plantes, ouvrant ainsi des perspectives pour leur intégration dans les industries pharmaceutiques et alimentaires.

Abstract

Caseous lymphadenitis is an infectious disease caused by the bacteria *Corynebacterium pseudotuberculosis*, which affects the lymphatic system, leading to abscesses in the lymph nodes and internal organs. It is observed in goats and sheep.

Peganum harmala (harmal) is a medicinal plant of the Zygophyllaceae family, quite rich in chemical constituents such as Amino acids, Flavonoids, pigments and alkaloids. The aim of this study is to evaluate the effect of extracts seeds of *Peganum harmala* on *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Our study gave very promising results regarding the effectiveness of the extracts against free radicals and bacterial strains. Medicinal plants are an immense source of bioactive molecules, endowed with numerous activities. The effects of the extracts were compared with those of antibiotics, by the method of diffusion in solid medium (disc). Both ethanolic and methanolic extracts showed higher antibacterial activity on *Corynebacterium pseudotuberculosis* compared to the aqueous extract. These results provide scientific support for the traditional use of these plants, thus opening up prospects for their integration into the pharmaceutical and food industries.

ملخص

التهاب العقد اللمفية الجبني هو مرض معدي تسببه بكتيريا السل الكاذب الوتدية ، والتي تصيب الجهاز الليمفاوي ، مما يؤدي إلى حدوث خراجات في الغدد الليمفاوية والأعضاء الداخلية. لوحظ في الماعز والأغنام.

Peganum Harmal (الحرمال) هو نبات طبي من عائلة Zygophyllaceae ، غني جدًا بالمكونات الكيميائية مثل الأحماض الأمينية والفلافونويد والأصبغ والقلويدات. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير المستخلصات بذور البيجانوم حرمل على الوتدية الكاذبة. أعطت دراستنا نتائج واعدة للغاية فيما يتعلق بفاعلية المستخلصات ضد الجذور الحرة والسلالات البكتيرية. تعتبر النباتات الطبية مصدرًا هائلًا للجزيئات النشطة بيولوجيًا ، وتتمتع بالعديد من الأنشطة. تمت مقارنة تأثيرات المستخلصات مع تأثير المضادات الحيوية بطريقة الانتشار في الوسط الصلب (القرص). أظهر كل من المستخلصات الإيثانولية والميثانوية نشاطًا مضادًا للبكتيريا أعلى على السل الكاذب الوتدي مقارنة بالمستخلص المائي. توفر هذه النتائج دعمًا علميًا للاستخدام التقليدي لهذه المصانع ، مما يفتح آفاقًا لدمجها في الصناعات الدوائية والغذائية.

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Aspect microscopique de <i>C.pseudotuberculosis</i> après coloration de Gram (X100).....	4
Figure 02 : Colonies de <i>C.pseudotuberculosis</i> sur gélose au sang de mouton.....	4
Figure 03 : Abscès superficiel rompu dans le ganglion lymphatique sous parotidien avec une perte de poils	6
Figure 04 : localisations internes et externes de la lymphadenite caséuse	7
Figure 05 : Multiples lésions caséuses dans les poumons	8
Figure 06 : <i>Peganum harmala</i> L et ses différentes parties (A. Arbuste de <i>P.harmala</i> ; B. fleurs ; C. Fruits ; D. Graines)	11
Figure 07. Matériel végétal utilisé dans l'étude	21
Figure08 : Organigramme du protocole expérimental	23
Figure09: Rendement d'extraction des composés phénoliques des graines de <i>peganum harmala</i> L pour les trois solvants.....	28
Figure 10 : Activité antibactérienne des différents antibiotiques sur <i>C,pseudotub</i> d'inhibition en mm)	32
Figure N° 11 : Effet inhibiteur dose-dépendant des trois extraits des graines de <i>Peganum harmala</i> L (zone d'inhibition en mm).....	33

INTRODUCTION

Introduction :

La lymphadénite caséuse est une maladie infectieuse bactérienne, contagieuse encore appelée la maladie des abcès, Elle est due principalement à l'action d'une bactérie appelée *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Elle affecte principalement les ovins et les caprins.

La maladie est reconnue comme une cause importante de pertes financières pour l'industrie du mouton dans un certain nombre de pays où la maladie est endémique. La principale cause de ces pertes économiques réside dans la condamnation et le déclassement des carcasses affectées à l'abattage et l'inspection des viandes (Williamson, 2001).

La plupart des cas humains ont été classés comme infections professionnelles touchant les travailleurs qui ont eu des contacts réguliers avec des moutons comme les bergers, les tondeurs, les travailleurs des abattoirs et les bouchers (Peel et al. 1997).

Les infections humaines ont tendance à être chroniques présentant une lymphadénite granulomateuse suppurative localisée pouvant affecter les ganglions axillaires, inguinaux ou cervicaux (Mills et al. 1997).

Le traitement avec des antibiotiques systémiques est généralement inefficace, la majorité des cas nécessitant une exérèse chirurgicale du ganglion touché. Malgré cela, la cicatrisation des plaies chirurgicales et les infections peuvent être prolongées, et la récurrence des lésions dans d'autres sites n'est pas rare (Henderson, 1979).

L'histoire de la phytothérapie remonte aux origines de l'humanité. Depuis longtemps, les hommes récoltent les plantes, non seulement pour se nourrir, mais aussi pour soulager leurs maux. Aujourd'hui, et lorsqu'on commence à prendre conscience de nos corps, on rejette certains médicaments modernes à causes de leurs effets secondaires puissants, et on les remplace par la médecine traditionnelle, qui est répandue partout dans le monde, non seulement chez les populations en développement, mais aussi dans des pays très développés.

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à faire une étude sur la plante *Peganum harmala* L, appartenant à la famille des Zygophyllaceae généralement connu sous le nom de harmel. Elle est considérée parmi l'une des plantes médicinales les plus célèbres en médecine traditionnelle.

INTRODUCTION

Objectif :

Les animaux destinés à la consommation humaine font souvent l'objet de traitements abusifs à base d'antibiotiques, si on ajoute à cela le fait que de nombreux éleveurs ne respectent pas le délai d'attente avant d'envoyer leurs animaux à l'abattoir, le danger sur la santé du consommateur est donc réel.

Ce travail a pour but de mettre en évidence l'effet d'un traitement alternatif à base d'extraits d'une plante appelée *Peganum harmala* L sur le *Corynebacterium pseudotuberculosis* responsable de la lymphadénite caséuse.

CHAPITRE I.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction :

La lymphadénite caséuse est une maladie infectieuse bactérienne, contagieuse, incunable encore appelée la maladie des abcès, suppuration caséuse, mal rouge de Sologne ou adénite caséuse. Elle est due principalement à l'action d'une bactérie appelée *Corynebacterium pseudotuberculosis* et secondairement au *Staphylococcus aureus*. Elle affecte principalement les ovins et les caprins (**Brugère-Picoux,2004**).

Il s'agit d'une pathologie cosmopolite, enzootique (enzootie de bergerie), à évolution chronique, marquée par le développement de Pyo-granulomes (abcès) principalement localisés dans les nœuds lymphatiques et les poumons (**Brugère-Picoux,2004**).

La bactérie a une grande capacité à résister dans l'environnement. Si l'on ajoute à cela le fait qu'elle est encapsulée dans des abcès dans le cas de la maladie caséuse, ce qui la rend inaccessible aux antibiotiques.

Les pertes économiques dues à cette maladie ne sont pas négligeables. Chez l'adulte elle se caractérise par la formation d'abcès à structure en «oignon », sous-cutanés, parfois intramusculaire avec hypertrophie des ganglions superficiels, particulièrement au niveau de la tête, mais la localisation viscérale est aussi fréquente et touche surtout les nœuds lymphatiques pulmonaires. Cette pathologie n'entraîne pas de forte mortalité mais la morbidité est élevée (**Pugh,2002**).

L'apparition des abcès de tailles variable (4 à 10 cm), constitue le principal signe de la maladie. On peut observer parfois, un amaigrissement progressif et des lésions de bronchopneumonie.

De par ses propriétés, *Corynebacterium pseudotuberculosis* a parfois été qualifiée de « parasite idéal ». En effet, une fois l'hôte infecté, un mécanisme lui permettant d'échapper au système immunitaire se met en place, ce qui a pour conséquence une chronicité de l'infection. Celle-ci étant rarement létale, l'animal continue à vivre en excréant la bactérie. S'il n'est pas dépisté, une grande majorité du troupeau peut être rapidement contaminée, ce qui est à l'origine de pertes économiques non négligeables.

I.2. Étiologie

La lymphadénite caséuse est une maladie bactérienne causée par une bactérie appelée *Corynebacterium pseudotuberculosis* ou bacille de Preisz-Nocard (**Brugère-Picoux,2004**).

I.2. 1. Taxonomie

- **Règne :** Bacteria
- **Embranchement :** Actinobacteria
- **Ordre :** Actinomycetales
- **Sous-ordre :** Corynebacterineae
- **Famille:** *Corynebacteriaceae*
- **Genre:** *Corynebacterium*
- **Espèce:** *Corynebacterium pseudotuberculosis*

I.2.2. Habitat

C'est une bactérie commensale de la peau, des muqueuses et du tube digestif des ovins (**P. Riegel ,2006**)

I.2.3. Caractères bactériologiques

I.2.3.1. Caractères morphologiques

Corynebacterium pseudotuberculosis est un bacille à gram positif de 0,5 à 0,6 mm de diamètre sur 1 à 3 mm de longueur, légèrement incurvé avec des extrémités arrondies, en massue et donne des groupements caractéristiques en paquets d'épingles, en palissades, ou en lettres chinoises (Fig. 01). Il est immobile, acapsulé et asporulé (**Chirino-Zarraga et al., 2006**).



Figure 01. Aspect microscopique de *C.pseudotuberculosis* après coloration de Gram (X100)

I.2.3.2. Caractères cultureux

Corynebacterium pseudotuberculosis est une bactérie aérobie-anaérobie facultative qui pousse sur gélose au sang de mouton à 37°C après 48h d'incubation.

Les colonies sont très petites, blanches, sèches et peuvent être entourées d'une étroite zone d'hémolyse après 48 à 72h d'incubation (Fig. 02). Ces colonies peuvent atteindre 3mm de diamètres après plusieurs jours d'incubation et deviennent friables et de couleur crème. Elles sont facilement décollables de la surface de la gélose et crépitent sous une flamme, à cause de leur important contenu en lipides (**Connor et al., 2000**).



Figure 02. Colonies de *C.pseudotuberculosis* sur gélose au sang de mouton

I.2.3.3. Caractères biochimiques

C. pseudotuberculosis fermente le glucose mais ne fermente pas le saccharose. C'est une bactérie catalase positive, uréase positive et oxydase négative (**Mohan et al., 2008**).

I. 3. Physiopathologie

C. pseudotuberculosis pénètre l'organisme principalement par le biais de lésions cutanées puis migre vers le ganglion lymphatique local de drainage pour former des pyogranulomes microscopiques dont la taille augmente progressivement puis les lésions combinent pour former de plus gros abcès.

La dissémination de l'infection peut se produire par transfert de la bactérie via le sang et le système lymphatique, ce qui peut entraîner la formation de lésions à d'autres endroits au sein de l'organisme infecté.

La capacité de la bactérie à résister au système immunitaire et de diffuser au-delà du principal lieu d'infection est en partie due à sa capacité à survivre et se reproduire dans les macrophages.

En effet, *C.pseudotuberculosis* possède une paroi cellulaire très riche en lipides, ce qui lui permet de résister à la digestion par les enzymes des phagolysosomes et persister en tant que parasite intracellulaire facultatif.

La multiplication intracellulaire de la bactérie entraîne la dégénérescence des cellules phagocytaires. Les abcès formés deviennent bien encapsulés, mais la phagocytose continue entraîne un processus de nécrose et de ré-encapsulation responsable de leur aspect lamellaire.

La dissémination de la bactérie implique la synthèse d'une exotoxine appelée phosphorylase D. Cette toxine catalyse la dissémination de la sphingomyéline, un composé membranaire important de l'endothélium vasculaire qui accroît le pouvoir de dissémination bactérienne. A partir du site d'infection, la bactérie est alors transportée par le système lymphatique ou veineux, sous forme libre ou associée aux macrophages. Elle peut entraîner l'apparition d'abcès dans la majorité des organes mais se localise principalement dans les poumons (**Fontaine et Baird, 2008**).

I. 4. Symptômes

On distingue plusieurs aspects cliniques (souvent associés) de la maladie caséuse qui évolue le plus souvent sous une forme subaiguë ou chronique.

Après inoculation, les bactéries peuvent rester localisées et former un abcès sous-cutané ou gagner les voies lymphatiques ou sanguines (abcès des ganglions).

Ces symptômes sont liés aux localisations des Pyo- granulomes. Il existe deux formes principales :

I.4.1. Forme superficielle ou cutanée

Elle est caractérisée par une hypertrophie des ganglions lymphatiques superficiels abcédés avec identification de masses fermes au niveau des ganglions mandibulaires, parotidiens, rétro-pharyngés, pré-scapulaires, pré-fémoraux, mammaires et inguinaux superficiels (**AL-Gaarbary et al., 2009**).

Les abcès peuvent se développer sur des périodes de temps importantes, se gonflent et s'enferment dans des capsules fibreuses, entraînant la perte de poils sus-jacents et souvent une rupture (Fig. 03)



Figure 03. Abscès superficiel rompu dans le ganglion lymphatique sous parotidien avec une perte de poils

<p>Atteinte des ganglions médiastinaux et trachéo-bronchiques sans atteinte</p>	<p>Atteinte des poumons, des ganglions, du foie avec des adhérences</p>
<p>Rupture d'un abcès sous parotidien</p>	<p>Atteinte du ganglion sous- maxillaire et du</p>

Figure 04 : localisations internes et externes de la lymphadénite caséuse (Chikhaoui et al 2013)

I.4.2. Forme viscérale

Elle est caractérisée par la formation de lésions à l'intérieur de l'animal, qui ne peuvent être observées à l'extérieur. Le site de ces lésions est généralement les ganglions lymphatiques principalement les ganglions lymphatiques médiastinaux ou les poumons (Fig.05). D'autres tissus peuvent également être affectés, il s'agit principalement du foie, des reins ou les glandes mammaires (**Fontaine et Baird, 2008**).

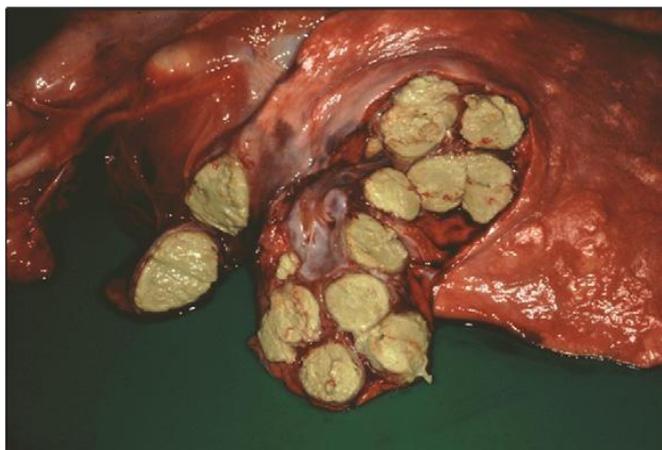


Figure 05. Multiples lésions caséuses dans les poumons

I.5. Diagnostic

Le diagnostic de la lymphadénite caséuse se fait par :

- Un examen physique des lésions associées aux ganglions lymphatiques.
- Une culture bactérienne de lésions suspectées.
- Un examen sérologique.

I. 6. Traitement

I. 6.1. Antibiothérapie

La localisation intracellulaire de *Corynebacterium pseudotuberculosis* et la forme de l'infection (Abscess) font appel à des antibiotiques liposolubles, avec un grand volume de distribution tissulaire et une bonne pénétration tissulaire. Ils doivent être basiques pour pouvoir pénétrer dans la cellule.

La bactérie est sensible in vitro à de nombreux antibiotiques dont la kanamycine, les sulfamides, les tétracyclines et l'ampicilline. Toutefois, la réponse thérapeutique est médiocre et peu efficace en raison du manque de biodisponibilité due à l'épaisse capsule entourant les abcès et parce que la bactérie réside à l'intérieur des cellules phagocytaires (**Clemence**

Guinard ,2013).

I. 6.2. Parage des abcès

L'exérèse chirurgicale est la solution la plus adaptée. L'animal doit être isolé, les matières extraites ne doivent en aucun cas polluer l'environnement. Elle permet une guérison dans les cas d'atteinte externe, mais la récurrence est fréquente.

L'abcès est incisé, les débris retirés, la coque rincée par de la polyvidone iodée, les écoulements du rinçage doivent aussi être récupérés. La vaporisation d'un antiseptique local doit être effectuée. L'eau de Javel peut être utilisée pour désinfecter le matériel voire même la coque de l'abcès. Les abcès non mûrs (c'est-à-dire sans fluctuation) ne doivent pas être traités **(Clemence Guinard.,2013).**

I. 7. Prophylaxie

Les vaccins présents actuellement dans le commerce sont en général dirigés contre la réponse immunitaire à médiation humorale, donc plus utiles pour limiter la dissémination de la bactérie dans l'organisme que pour l'éliminer complètement. Le bénéfice de la vaccination réside donc essentiellement dans le fait qu'elle prévient l'établissement de l'infection chez les animaux n'ayant pas encore été exposé à la bactérie **(Williamson, 2001)**. Il faut souligner que

le vaccin n'est pas disponible en Algérie, il a été importé il ya quelque année mais n'a pas susciter beaucoup d'intérêt de la part des éleveurs, d'une part pour son prix élevé et d'autre part pour son conditionnement.

CHAITRE II

Peganum Harmala et Composés phénoliques

I.1. Généralités sur *Peganum harmala* L.

I.1.1. Description botanique

Peganum harmala L est une plante herbacée, vivace, glabre, buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur à rhizome épais, à odeur forte, désagréable qui rappelle celle de la rue. Les tiges dressées, très rameuses portent des feuilles alternes, découpées en lanières étroites avec des fleurs solitaires, assez grandes (25 à 30 mm), d'un blanc-jaunâtre veinées de vert.

Les graines sont nombreuses, petites, anguleuses, sub-triangulaires de couleur marron foncé, elles ont une saveur amère et sont récoltées en été.

- Les fruits sont des petites capsules sphériques déprimées au sommet renfermant des graines noires (Chopra et al., 1960 ; Quezel & Santa, 1963 ; Ozenda, 1977).



Figure 06. *Peganum harmala* L et ses différentes parties (A. Arbuste de *P. harmala* ; B. fleurs ; C. Fruits ; D. Graines)

I.1.2. Taxonomie Règne : Végétal**Embranchement :** Spermaphytes**Sous -embranchement :** Angiospermes**Classe :** Eudicots **Sous classe :** Malvides **Ordre :** Sapindales**Famille :** *Zygophyllaceae***Genre :** *Peganum***Espèce :** *Peganumharmala*L. (Moghadam *et al.*, (2010))**I. 1. 3. Nomenclature**➤ **Nom latin :** *Peganumharmala*➤ **Nom commun :** Rue sauvage ; Rue verte ; Pégane (Lamchouriet *al.*, 2000).➤ **Nom vernaculaire :** Harmel ; Armel ; L'harmel (L'Afrique du Nord)➤ **I. 1. 4. Distribution géographique**

Peganum harmala Lest une plante endémique des zones arides et semi- arides, cosmopolite très commune dans les sols sableux et un peu nitrés, elle se développe :

➤ En Afrique, particulièrement dans les zones arides méditerranéennes (Maroc oriental, Sahara septentrional, hauts-plateaux algériens, Tunisie, steppes de la Libye et déserts d'Egypte).

➤ En Europe dans les zones sèches (Espagne, steppes de la Russie méridionale et Hongrie).

➤ En Asie dans les steppes de l'Iran , de l'Irak, du Pakistan, du Turkestan jusqu'au Tibet et en Sibérie (Fasla, 2009).

I. 1. 5. Principes actifs majeurs

Les constituants chimiques majeurs de la plante sont les suivants :

1. Acides aminés : phénylalanine, valine, proline, thréonine, histidine, acides glutamique et carbohydrates.

2. Polyphénols : flavonoïdes, coumarines, tanins, quinones.

3. Pigment : le tégument externe de la graine renferme un pigment rouge dit « Turkey Red » et un composé fluorescent.

4. **Les alcaloïdes** qui ont un noyau indole : harmane, harmine, harmaline, harmalol (harmol) qui représentent les principales toxines. Le taux d'alcaloïdes est beaucoup plus élevé dans la graine que la racine, la tige, et la feuille. Cette teneur s'élève en été durant la maturité du fruit (**Kartal et al., 2003**).

5. L'huile des graines de *P. harmala* est composée majoritairement d'acides oléique, linoléique et palmitique.

I. 1. 6. Utilisations

Le Harmel est très utilisé en médecine traditionnelle algérienne et maghrébine pour traiter les troubles :

- **Gynécologiques** : abortif, stérilité féminine
- **Généraux** : hypnotique, antipyrétique, antalgique, antitussif
- **Digestifs** : coliques, troubles digestifs
- **Cutanés** : antiseptique et cicatrisant, dermatoses (eczémas) et brûlures, conjonctivites purulentes, blépharites et alopécie
- **Infectieux** : anthelminthique (ascaris, tænia) ; antipaludique ; oreillons Le harmel est utilisé au Maghreb soit en usage externe, soit "peros" :

Usage externe :

- La plante fraîche est soit hachée et employée en cataplasmes, soit utilisée après extraction du suc pour la composition d'un liniment à base de graisse de mouton.
- La plante sèche ou graines sont utilisés sous forme de fumigations.

Usage interne :

- Graines : posologie en médecine traditionnelle nord-africaine : une cuillerée à café, soit environ 2,5 g, avalées telles quelles avec un verre d'eau ou mélangées au miel ou pilées avec de l'huile d'olive.
- Plante fraîche hachée et bouillie dans l'huile.
- Feuilles sèches en décoction (**Aouadhi, 2010**).

II. 2. Composés phénoliques

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans

différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considéré. Ces composés regroupent une multitude de molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal.

II. 2.1. Définition

Les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (**Sarni-Manchado et Cheynier 2006**).

Ils correspondent à une très large gamme de structures chimiques et sont caractérisées par une répartition qualitative et quantitative très inégale selon les espèces considérées mais aussi les organes, les tissus et les stades physiologiques (**Li et al., 1993**).

Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement.

II. 2.2. Classification

Les polyphénols constituent un des groupes les plus nombreux et largement distribués des substances dans le royaume des végétaux, ils sont divisés en une dizaine de classes chimiques qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Vermerris and Nicholson, 2006**).

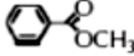
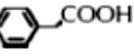
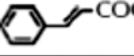
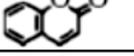
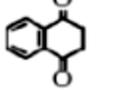
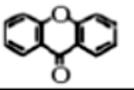
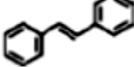
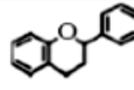
La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

I. 1. 7. Toxicité de la plante

Chez l'homme, l'harmaline à la dose de 4 mg par kg, per os produirait des effets psychomimétiques. Des doses plus élevées provoquent des convulsions, suivies d'une paralysie du système nerveux central avec une paralysie respiratoire, hypothermie, hypotension avec défaillance cardiaque et diminution de la contraction des muscles lisses. Il existe plus de 8000 structures phénoliques identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

Elles peuvent être classifiées selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (**Tableau N°1**). Ces molécules sont généralement conjuguées à d'autres molécules telles que les glucides, les lipides et les acides organique (**Crozier *et al.*, 2006**).

Tableau N° 1 : Structure des squelettes des polyphénols (**Crozier *et al.*, 2006**).

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	acétophénones	Gallacetophénone	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculitine	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiférine	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine	

I.2.3. Biosynthèse des polyphénols

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales qui sont :

I.2.3.1. Voie de l'acide shikimique

a. Synthèse des acides aminés aromatiques

Cette voie débute par la condensation de l'acide phospho-énol-pyruvique (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate, réaction comparable à celle de la phosphodihydroxy-acétone (DHAP) avec l'érythrose phosphate, lors de la photosynthèse (Cycle de Calvin). Les réactions suivantes conduisent à la formation, en 5 étapes de l'acide shikimique, puis après condensation avec une nouvelle molécule de PEP, de l'acide préphénique (4 étapes), qui par décarboxylation et déshydratation, est à l'origine de l'acide phénylpyruvique [2]

L'acide préphénique par décarboxylation et déshydratation, est à l'origine de l'acide phénylpyruvique. Ainsi, il ne se forme pas uniquement un noyau aromatique, celui-ci

s'accompagnant d'une chaîne latérale en C3. Le mode de formation de la tyrosine et de la phénylalanine à partir du préphénate varie en fonction des espèces et des groupes de végétaux et fait appel à la transamination [2]

b. Synthèse des métabolites secondaires

La désamination, par une Ammonia-lyase, de la phénylalanine produit de l'acide cinnamique à l'origine de la majorité des composés aromatiques. Une variante permet l'obtention de la tyrosine (acide aminé différent de la phénylalanine par un OH phénolique) dont la désamination conduit à l'acide hydroxy cinnamique ou acide coumarique .

La phénylalanine ammonia-lyase (PAL), présente chez les plantes supérieures et les champignons, est absente des cellules animales. C'est l'enzyme clé du métabolisme des composés phénoliques, et à son niveau se jouent les facteurs de régulation de leur biosynthèse. Le "phytochrome", pigment récepteur de la lumière intervenant dans nombreux mécanismes de l'adaptation écologique (photopériodisme) active la synthèse de la PAL. La cyclogénèse se produit, soit au niveau des parties vertes de la plante, l'érythrose et le PEP provenant directement de la photosynthèse (ex : flavone, anthocyanes), soit dans les tissus profonds non chlorophylliens, le PEP provenant alors de la glycolyse et l'érythrose provenant du cycle des pentoses (lignines par exemple). La cyclogénèse a lieu au niveau du réticulum endoplasmique où un complexe multi-enzyme intervient [2]

I.2.3.2. Voie de l'acide malonique « Malonyl Pathway »

Ce mode de formation plus secondaire consiste en la cyclisation des chaînes polycétoniques, elles-mêmes obtenues par condensation de groupements acétates. La condensation des groupements acétates ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl CoA en malonyl-CoA. Ce mode de formation est celui qui prédomine chez les plantes non vertes, synthèse de l'acide pénicillique par les *Penicillium*, synthèse des anthoquinines chez les Lichens et les Champignons. Chez les flavonoïdes, les anthocyanes, le cycle benzénique latéral (A) provient de l'enchaînement de 3 acétyl-CoA. [2]

I.2.4. Effets biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en général sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergiques, anti-arthérogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatrice.

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox

en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (Hoffmann, 2003).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire. D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires.

De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau (Hoffmann, 2003).

I.2.4. 1. Effet anti allergique

L'effet anti-allergique des polyphénols est attribué à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺-dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase Ca²⁺-dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme. (Di Carlo, 1999).

I.2.4. 2. Effet anti-inflammatoire

Sous l'action de la cycloxygénase et la lipoxygénase, l'acide arachidonique est métabolisé respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Une étude a montré que certains polyphénols sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes.

Les effets de la quercétine et de la myricétine sont dose-dépendants. A de fortes concentrations, ils inhibent la cycloxygénase et la lipoxygénase. Cependant, à de faibles concentrations, seule la lipoxygénase est affectée. En revanche, d'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cycloxygénase.

La phagocytose qui accompagne une infection virale ou bactérienne est suivie d'une production d'espèces oxygénées réactives par les neutrophiles, ce qui va promouvoir l'inflammation. D'une manière générale, les espèces radicalaires, quelles que soient leurs origines, peuvent induire des dommages tissulaires, favoriser le processus de vieillissement, voire être à l'origine de certaines pathologies telles que le cancer et l'athérosclérose. Il est intéressant de noter que de nombreux flavonoïdes sont capables de contrer cette production d'espèces oxygénées par les neutrophiles (**Limasset, 1993**).

I.2.4. 3. Effet anti-ulcère

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres et également l'inhibition de la production leucotriènes (**Guergour Hassina.,2018**).

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés anti-ulcère de la quercétine, la naringénine, la rutine et le kaempférol, et la production de PAF (*Platelet Activating Factor*) qui est un agent ulcérogène potentiel. En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par les flavonoïdes (**Guergour Hassina.,2018**).

I.2. 5. Activités thérapeutiques polyphénols

I. 2. 5. 1. Prévention des maladies cardiovasculaires

L'ingestion de flavonoïdes d'origine alimentaire a été associée à une réduction considérable de la mortalité liée aux maladies cardio-vasculaires. En effet, il a été démontré que la quercétine exerce des effets antioxydants, antiagrégants et vasodilatateurs pouvant expliquer ses effets cardio-prophylactiques (**K. Ghedira .2005**).

I. 2. 5. 2. Prévention des maladies hormono-dépendantes

Les effets bénéfiques des polyphénols (lignanes en particulier) dans la prévention de cancers hormono-dépendants ont été largement documentés ces dernières années par des études épidémiologiques identifiant une relation entre la présence de lignanes dans la ration alimentaire et le taux d'incidence de certains cancers (**Lainé et al., 2007**).

I. 2. 5. 3. Activité anticancéreuse

Les polyphénols présentent des effets préventifs contre l'initiation tumorale via de nombreux mécanismes, tels que la prévention de la formation de molécules génotoxiques et le blocage de l'activité des enzymes de transformation des mutagènes (**Frassinetti et al., 2019**), la régulation des enzymes de phase I contenant de l'hème, telles que cytochrome P450 (CYP) (**Basheer, 2016**); la régulation des enzymes de phase I détoxifiant les cancérogènes, telles que NADPH-quinone oxydoréductase-1 (NQO1), quinone réductase (QR), glutathion S-Transférase (GST), et l'uridine diphospho (UDP) glucuronosyl transférase (UGT) (**Kou et al., 2013**) et la prévention de la formation d'adduits à l'ADN.

I. 2. 5. 4. Activité antimicrobienne

Les flavonoïdes sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (**Cowan, 1999**).

D'autre part, les tanins sont largement connus par leurs propriétés inhibitrices des micro-organismes et des enzymes grâce à leur pouvoir à former des complexes stables avec les protéines et en les précipitant (**Nguz et al., 1996**). Ils exercent une activité anti-bactérienne par interaction avec la membrane cellulaire qui induit un changement morphologique de la bactérie, en inhibant l'activité des protéases, des protéines de transport et des adhésines (**Cowan, 1999**).

Des effets inhibiteurs de la réplication des virus ont été également décrits *in vitro* (**Charpentier et al., 2008**). Le tableau N°2 présente le mode d'action de quelques composés phénoliques.

Tableau N°2 : Mode d'action de quelques composés phénoliques (Cowan, 1999).

Différents composés Phénoliques	Exemples	Mécanismes
Phénols simples	Catéchol	Privation de substrat
Acides phénoliques	Acidecinnamique	Désactivation des enzymes
Quinones	Hypericin	Liaison aux protéines
Flavonoïdes	Abyssinone	Inhibition des enzymes
Tannins	Ellagotannin	Interruption de la fonction membranaire

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre –I-

Matériel et Méthodes

I.1. Objectifs du travail

Les principaux objectifs de la présente étude se résument dans les volets suivants :

- Extraction des composés phénoliques des graines de *Peganum harmala* L.
- Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques par des tests de sensibilité *in-vitro* vis-à-vis de *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

I.2. Lieu et durée de l'étude

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de Technologie Alimentaire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et du laboratoire de microbiologie de l'institut des Science Vétérinaires pendant deux périodes du 1^{er} au 10 Mars 2020 et du 19 au 24 septembre 2020. Cette longue coupure est due à la crise sanitaire du covid 19.

I.3. Matériels

I. 3. 1. Matériel végétal

Nous avons utilisé les graines des *Peganum harmala* L provenant de la zone OUED-ELJEMAA de la wilaya de Relizan. Les graines ont été récoltées à l'état mature durant le mois de janvier 2020 (**Figure 07**)



Figure 07. Matériel végétal utilisé dans l'étude

a. Graines de *P.harmala* L lavées et séchées ; **b.** Graines de *P.harmala* L broyées en poudre

I.3.2. Matériel biologique

Nous avons utilisé une souche de *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolée d'un abcès cervical chez un ovin (au niveau du ganglion sous parotidien). Le nombre des souches

utilisées dans la présente étude est insuffisant et ce en raison de la pandémie COVID 19 qui nous a empêchées de faire plus de prélèvements en raison de la fermeture des universités et l'interdiction d'accéder aux laboratoires par ordre présidentiel depuis le 12 Mars 2020 jusqu'au 19 Septembre 2020.

I.3.3. Matériel de laboratoire

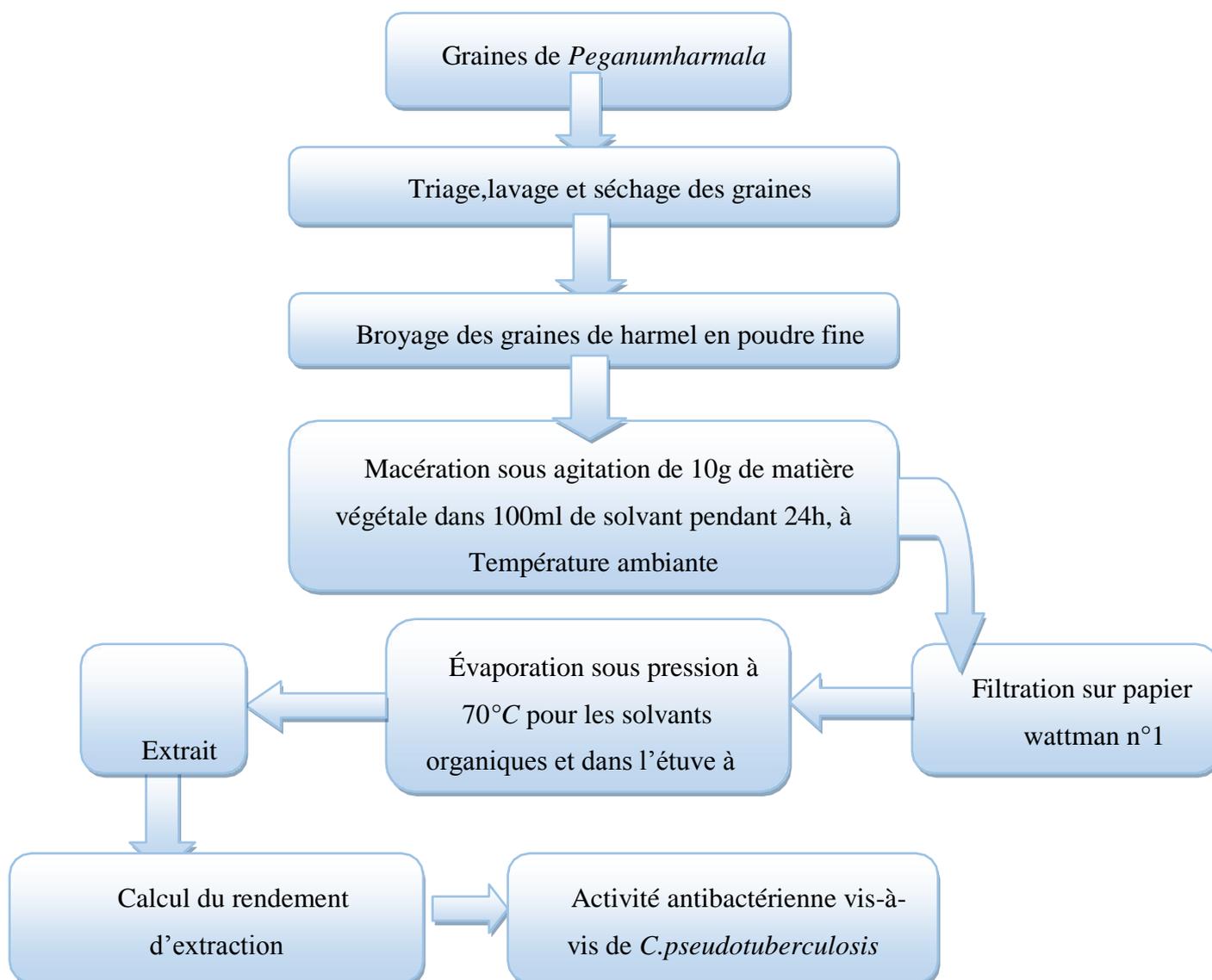
Le matériel de laboratoire et les produits nécessaires à la réalisation de ce travail sont résumés dans le tableau ci-dessous

Tableau 03 : Matériels de laboratoire et produits utilisés

Appareillage, verrerie et instruments	Produits	Milieux de culture
<ul style="list-style-type: none"> -Agitateur magnétique (VELP scientifica). - Vortex (Dragon Lab) - Autoclave (DSX-280B) - Bain marie (GFL) - Balance de précision (Sauter RE2021) - Broyeur électrique - Evaporateur rotatif (HEIDOLPH, W60) - Spectrophotomètre (PharmaciaBiotech) - Etuve (Memmert) - Microscope optique (Optika) - Ballons, béchers, entonnoirs - Boîtes de Pétri, lames, tubes à essai - Pipettes graduées, Pipettes pasteur - Cuves spectrophotométriques - Ecouvillons stériles - Pincettes métalliques 	<ul style="list-style-type: none"> -Peroxyde d'hydrogène - Eau physiologique - Ethanol pur - Méthanol pur - Violet de gentiane - Lugol - Fuschine 	<ul style="list-style-type: none"> -Gélose au sang (base Colombia) -Milieu urée-indole -Gélose Mueller-Hinton

N.B : la composition des milieux de culture est donnée dans l'**Annexe 01**

I. 4. Méthodes



La démarche expérimentale globale est illustrée dans l'organigramme ci-dessous :

Figure08 : Organigramme du protocole expérimental

I.4.1. Extraction des composés phénoliques

La méthode d'extraction que nous avons adoptée est la macération dans l'eau et les solvants organiques méthanol et éthanol (**Brzowska et al., 1973**).

➤ Principe

Le principe consiste à ce que le solvant doit franchir la barrière de l'interface

solide/liquide, dissoudre le composé actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur. L'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté se fait par dialyse ou par diffusion (**Ben Ammar, 2008**).

➤ **Technique**

Dix (10) grammes de la poudre végétale ont été additionnées à 100 ml de solvant (méthanol, éthanol ou eau distillée). Après une agitation continue pendant 24h à température ambiante et à l'obscurité, une filtration a été faite sur papier Wattman n°1. Les filtrats ainsi obtenus ont été évaporés à sec à l'étuve pour l'extrait aqueux ou par un évaporateur rotatif à 70° C pour les extraits organiques.

L'extrait sec a été solubilisé et conserver dans des flacons opaques à température ambiante (**Zerroug et al., 2011**).

I.4.1.1. Calcul du rendement d'extraction

Le poids en extrait sec a été calculé par la différence entre le poids du ballon plein (après élimination du solvant) et celui du ballon vide.

Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage. Il est calculé par la formule suivante :

$$R\% = (P_F/P_I) \times 100$$

Où :

R : Rendement en pourcentage

P_F : Poids de l'extrait sec

P_I : Poids de la poudre mise à l'extraction (**Zerrouget al.,2011**).

I.4.3. Evaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques

I.4.3.1. Isolement et identification des bactéries

Le pus prélevé par ponction d'un abcès cervical chez un ovin a été ensemencé sur gélose au sang frais de mouton puis incubée à 37°C pendant 24 heures.

I.4.3.2. Identification bactérienne

I.4.3.2. 1.Examen macroscopique

Les colonies bactériennes ont été examinées macroscopiquement afin de déterminer leur forme, taille, couleur et autres caractères.

I.4.3.2. 2.Examen microscopique

Un frottis bactérien a été préparé puis coloré par la coloration de Gram (**Annexe 02**) et examiné sous microscope au grossissement (100X) afin de déterminer les caractères morphologiques de la bactérie.

I.4.3.2. 3.Examen biochimique

1. Test de la catalase

➤ Principe

➤ D'après **Marchal et al., (1982)**, la catalase est une enzyme qui dégrade le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène selon la réaction suivante



➤ Technique

Une parcelle de culture prélevée à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur a été émulsionnée dans une goutte d'eau oxygénée à 3% préalablement déposée sur une lame propre. Une réaction positive se traduit par la formation immédiate de bulles de gaz, par contre l'absence de bulles indique un résultat négatif (**Marchal et al., 1982**).

2. Test de l'uréase

➤ Principe :

L'hydrolyse de l'urée en carbonate d'ammonium est un élément important du diagnostic des bactéries qui utilisent l'urée comme seule source d'azote. L'alcalinisation produite dans le milieu est détectable par un indicateur coloré.

➤ Technique

Ensemencer une parcelle de culture dans le milieu urée-indole puis incubé ce dernier à 37°C pendant 24heures.

Une réaction positive se traduit par un virage de la couleur du milieu du jaune orangé

vers le rose violacé.

I.4.3. 3. Activité antibactérienne

I. 4.3. 3.1. Antibiogramme standard

Après identification bactérienne, la souche de *Corynebacterium pseudotuberculosis* a fait l'objet d'un test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme standard) selon la technique préconisée par le CLSI (2006).

a. Préparation et standardisation de la suspension bactérienne

Une suspension bactérienne de la souche à tester est préparée à partir d'une culture jeune de 24 heures : des colonies isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et placées dans un tube contenant 5ml d'eau physiologique stérile. La suspension ainsi obtenue est ajustée à l'échelle 0.5 McFarland par lecture de la densité optique à une longueur d'onde de 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

b. Ensemencement

La suspension bactérienne obtenue est étalée par écouvillonnage à la surface de la gélose Mueller-Hinton additionnée de 5% de sang frais de mouton coulée sur une épaisseur de 4mm dans des boîtes de pétri de 90 mm.

c. Application des disques d'antibiotiques

Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne de la souche étudiée.

Nous avons utilisé les antibiotiques suivants : Amoxicilline +Acide clavulanique (**AMC**), Benzylpenicilline(**P**), Streptomycine (**S**), acide naldixique (**NA**), Amoxicilline (**AM**), Vancomycine (**VA**), Erythromycine(**E**), Tétracycline (**TE**) et Sulfaméthoxazole-Triméthoprime (**SXT**).

Les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures et après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés puis interprétés en se référant à la table de lecture de l'antibiogramme.

I.4.3. 3.1. Activité antibactérienne des extraits phénoliques

Afin d'évaluer l'effet antibactérien des extraits de graine de *Peganum harmel L*, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé.

➤ Technique

Un inoculum bactérien préparé à partir d'une culture jeune puis standardisé au standard McFarland 0.5 est ensemencé par écouvillonnage à la surface de la gélose Müller- Hinton. Des disques en papier filtre de 6mm de diamètre ont été stérilisés (stérilisation à 121°C pendant 15 min par autoclavage) puis imprégnés de 20µl de chaque extrait et déposés ensuite à la surface des géloses préalablement ensemencées.

Pour chaque extrait, le screening antibactérien a été effectué avec quatre concentrations préparées dans l'eau physiologique stérile : 62,5mg/ml, 31,25mg/ml, 15,62mg/ml et 7,81mg/ml. Les boîtes ont été ensuite fermées et laissées pendant 15 minutes pour une pré-diffusion à température ambiante avant d'être incubées à 37°C pendant 24 h.

Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (**Adesokan et al., 2007**).

Chapitre –II-

Résultats ET Discussion

I.1. Extraction et des composés phénoliques

I.1.1. Rendement d'extraction

Le rendement des extraits des composés phénoliques des graines de *Peganum harmala* L a été obtenu par macération en utilisant trois solvants (méthanol, éthanol et eau distillée) **figure N° 08**.

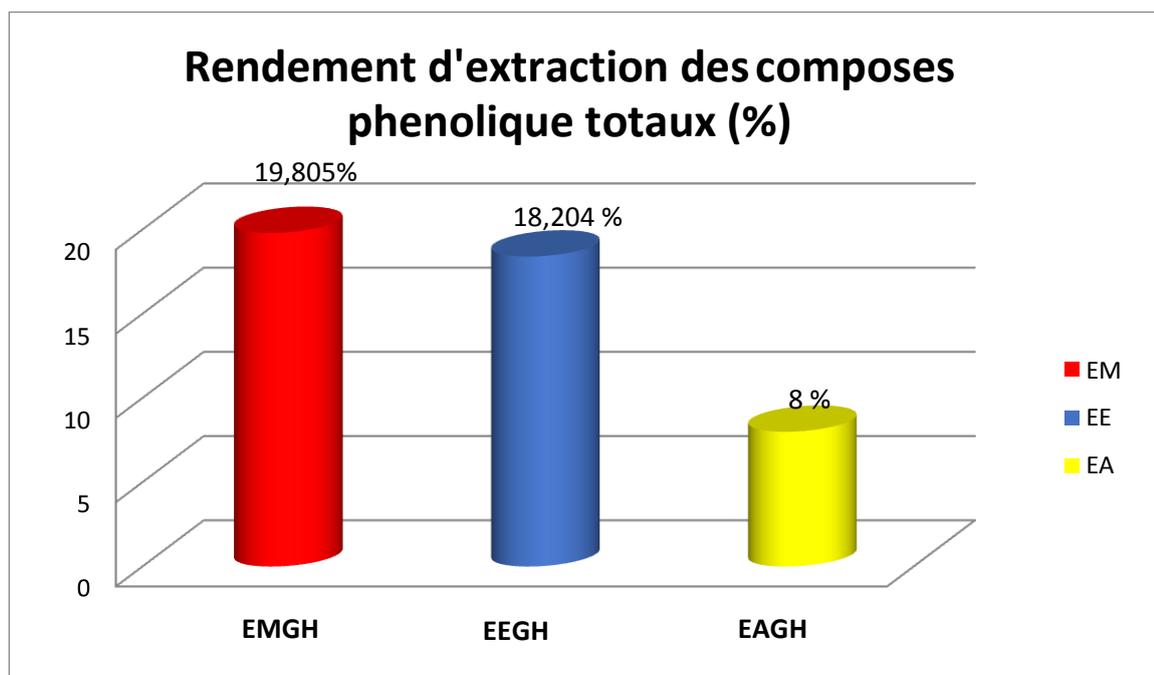


Figure 09 : Rendement de l'extraction des composés phénoliques des graines de *Peganum harmala* L pour les trois solvants.

Les extraits sont récupérés sous forme de poudre de couleur marron, ces derniers présentent une bonne solubilité dans le méthanol et l'éthanol par rapport à l'extrait aqueux.

Ce rendement est calculé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids total du broyat, il varie en fonction du solvant utilisé et est exprimé en pourcentage massique.

Le résultat du rendement de l'extrait méthanolique est le plus élevé 19,805 % suivi par celui de l'extrait éthanolique 18,204% et enfin l'extrait aqueux 8%.

Le rendement de l'extrait méthanolique que nous avons obtenu est supérieur à celui obtenu par **Djafar et Rebbouh** et (2016) qui ont enregistré un rendement de 14,35 %.

Le rendement en extrait éthanolique que nous avons obtenu (19,805%) est supérieur à celui rapporté par **Nassima et al.**, (2012) qui ont enregistré une valeur de 11,71%. Dans une étude réalisée par **Rezzagui** (2012), l'extraction brute effectuée par le méthanol a 80% à

abouti à un rendement de 20,18%. **El abed et al.**, (2014) ont rapporté un rendement de 15% pour l'extrait méthanolique d'extraction par soxhlet.

Le résultat du rendement obtenu pour l'extrait aqueux est supérieur par rapport à celui de **Nassima et al.**, (2012) qui ont obtenu 34,10%, mais est inférieur à celui obtenu par **El abed et al.**, (2014) qui ont rapporté un rendement de 18%.

Ces variations peuvent s'expliquer par la méthode utilisée, les conditions expérimentales dans les qu'elle l'extraction a été mise au point ainsi que le type de solvants utilisés.

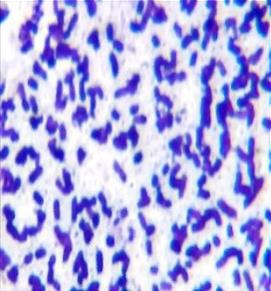
I.2. Activité antibactérienne

I.2.1 Identification

L'identification bactérienne a permis de mettre en évidence la présence d'une (01) souche de *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

Les résultats des tests de pré-identification des *C. pseudotuberculosis* sont présentés dans le **tableau N°04**

Tableau N°04 : Tests de pré-identification des souches de *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Souche	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Catalase	Uréase
<i>C. pseudotuberculosis</i>	Colonies arrondies, à bords réguliers, bombées, de couleur blanchâtre sur gélose au sang	Bacille à gram positif, groupés en palissade sous forme de lettres chinoises	Positive	Positive
				

I.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

I.2.2.1. Méthodes de diffusion

a. Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme standard)

Les résultats de la sensibilité des souches étudiées vis-à-vis des antibiotiques testés sont résumés dans le **tableau N°05**.

Tableau N°05 : Diamètre des zones d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes étudiées (en mm).

Classe	ATB	Diametre d'ihnhibition (mm)	Interprétation
Aminosides	P ₁₀	0	R
	AM	0	R
	AMC	0	R
Glycopeptides	CN ₁₀	17	S
Sulfamides	TE ₃₀	0	R
SULFAMIDES	STX		S
AMINOSIDES	S	11	R
	NV	0	R
	NA	14	I
	CT	13	S

Les résultats du tableau 05 montrent une multirésistance du *C.pseudotuberculosis* vis à vis des d'antibiotiques appartenant à au moins quatre classes d'antibiotiques différentes. En effet, *C.pseudotuberculosis* a été résistants aux antibiotiques de la classe des Bétalactamines, Aminosides et Tétracyclines. De plus, la souche de *C.pseudotuberculosis* étudiée a montré une résistance vis-à-vis des antibiotiques appartenant de la classe des macrolides (résistance de *C.pseudotuberculosis* à l'erythromycine), et à celle des sulfamides (résistance de *C.pseudotuberculosis* au sulfamethoxazole-triméthoprime) .

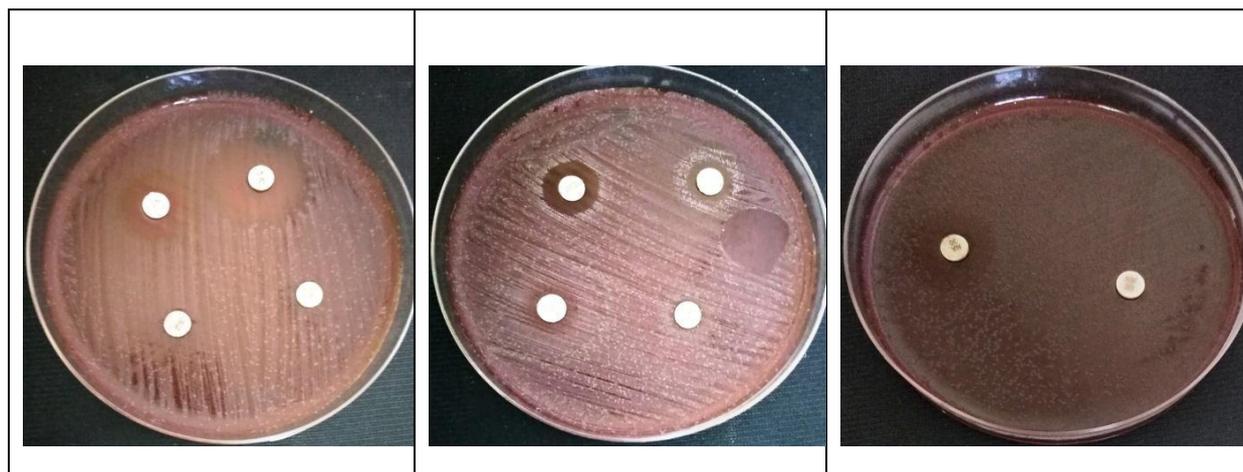


Figure 10 : activité antibactérienne des différents antibiotiques sur *C.pseudotuberculosis* (zone d'inhibition en mm)

b. Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode des disques

Les résultats relatifs à l'évaluation de l'effet antibactérien des trois extraits ; méthanolique, éthanolique et aqueux des graines de *peganum harmala L* vis-à-vis des souches bactériennes étudiées sont présentés dans **le tableau N°06**.

Tableau N°06 : Diamètres des zones d'inhibition de *C. pseudotuberculosis* mm en fonction des concentrations des trois extraits des grains de *Peganum harmala L*

Extrait	Concentration (mg/ml)	Diametre des zones d'ihnhibition (mm)
	250	21±1
Méthanolique	125	17±0
	62,5	11,5±0,5
	31,25	8,5±0,5
	250	13,5±1,5
Ethanolique	125	15±1
	62,5	10,5±1,5
	31,25	9±1
	250	12±2
Aqueux	125	0
	62,5	0
	31,25	0

Les résultats du **tableau 06** montrent que les trois extraits ont un effet inhibiteur sur la souche bactériennes testée avec des diamètres allant de $8,5\pm 0,5$ à 21 ± 1 pour l'extrait Méthanolique, de 9 ± 1 à $13,5\pm 1,5$ pour l'extrait éthanolique et de 0 à 12 ± 2 pour le l'extrait aqueux. Cet effet est nettement **dose-dépendant** car nous avons trouvé une diminution des diamètres des zones d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait appliquée (**Figure N°10**).



Figure N° 11 : Effet inhibiteur dose-dépendant des trois extraits des graines de *Peganum harmala* L (zone d'inhibition en mm).

Discussion :

La lymphadénite caséuse (LC) des ovins, ou maladie des abcès, est une maladie infectieuse bactérienne hautement contagieuse due à *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

Les antibiotiques usuels possèdent un certain pouvoir dans la destruction de la bactérie causant la lymphadénite caséuse. Cependant, les moyens de défense de l'animal en réaction à la présence de la bactérie nuisent à l'efficacité de l'antibiothérapie. En effet, l'épaisse capsule qui se crée autour de l'abcès afin de limiter la propagation la bactérie est une entrave à la pénétration des antibiotiques à l'intérieur de l'abcès (**Gezon et al.** 1991).

L'inefficacité et le cout élevé du traitement antibiotique font que cette option ne soit pas rentable pour la gestion de la maladie au niveau du troupeau (**Ellis**, 1990).

Le traitement des animaux atteint se compose du drainage des abcès puis le nettoyage et la cautérisation chimique habituellement avec 10% d'iode. (**Davis**, 1990).

Un autre traitement a été utilisé, mais il est très controversé, et aujourd'hui interdit dans un certain nombre de pays. Il s'agit d'injecter puis de ré-aspirer environ 20 ml d'une solution

de formol à 10% dans l'abcès. Cela entraîne un écoulement du pus hors de l'abcès dans les semaines qui suivent, mais augmente le risque de contamination de la viande et du lait. Ce traitement peut laisser un résidu d'un composé cancérigène chez des animaux destinés à la production. De plus, l'injection doit être faite à l'endroit où l'abcès est fixé à la peau. S'il ne l'est pas, elle entraînera des dommages dans les tissus environnants, et sera douloureuse pour l'animal (**Smith et Sherman, 2009**).

Puisque les animaux affectés servent de réservoir de l'infection, la méthode la plus pratique pour le contrôle de LC chez les ovins et les caprins, à part l'utilisation de vaccins efficaces, est la réforme et l'abattage des animaux présentant des lésions palpables (**Paton et al. 2005**).

Les échecs de traitement peuvent également être le résultat de l'incapacité d'obtenir des concentrations adéquates d'antibiotiques au site de l'infection, la surconsommation d'antibiotiques ainsi que le non-respect de la posologie (traitements trop courts ou trop longs et parfois mal dosés) et l'état du système immunitaire de l'animal traité engendre la rapidité du développement de la résistance. (**Guardabassi et Courvalin, 2006**).

Certains éleveurs ne respectent pas le délai d'attente pour que l'antibiotique soit complètement éliminé avant l'abattage des animaux. Les résidus contenus alors dans les viandes, les abats et le lait sont à l'origine d'éventuelles résistantes aux antibiotiques chez le consommateur.

Face à la perte d'efficacité de l'antibiothérapie, et la mise en péril de la santé des consommateurs par l'émergence de germes multi-résistants, la découverte de nouvelles molécules est devenue une nécessité absolue. Les substances naturelles, connaissent actuellement un regain d'intérêt contre les maladies infectieuses d'où l'intérêt de chercher des substances alternatives. C'est dans cette optique que nous avons choisi *Peganum harmala*.

Le traitement de la lymphadénite caséuse chez les petits ruminant fait l'objet de discussions parmi les vétérinaires, dans une étude un nouveau traitement par utilisation d'une pommade à base de propolis a donné des résultats prometteurs.

La propolis a déjà prouvé qu'elle avait une activité antibactérien prononcé contre les bactéries Gram positives et Gram négatives (**Machado BAS et al., 2016**), cependant ils présentent un potentiel cytotoxique.

Ils ont démontré que les moutons traités avec la pommade à base de propolis ont pu guérir de leurs plaies une semaine avant le groupe traité à l'iode.

Ils ont pu voir également une récupération des poils plus organisée chez les animaux traités à la propolis, par rapport aux animaux traités à l'iode. Cette situation peut être liée au profil histotoxique de la teinture d'iode.

En revanche, la propolis verte peut inhiber le recrutement et l'activation des neutrophiles et des macrophages, ainsi que production de facteur de nécrose tumorale (**Lima LDC et al., 2014**).

Peganum harmala est une plante médicale très utilisée en Algérie et au Maroc pour traiter différents troubles tel que la stérilité féminine, les dermatoses (eczémas), les brûlures, conjonctivites purulentes, blépharites, et alopécie. (**Hammiche et Merad, 1997**). Elle est disponible chez tous les herboristes, et elle est présente dans la nature à l'état sauvage.

Cependant, de nombreuses études publiées ont rapporté des effets toxiques potentiels de cette plante chez l'homme et les animaux. Il est nécessaire de caractériser les effets de cette plante sur les systèmes biologiques, y compris ses effets toxicologiques.

En médecine traditionnelle, ses graines sont depuis longtemps utilisées comme narcotiques, antihelminthiques, antispasmodiques et dans certains cas contre les rhumatismes et l'asthme (**Siddiqui et al., 1988 ; Bellakhdar, 1997**).

Cette utilisation des graines est due à la richesse de celles-ci en alcaloïdes de type β -carboline dont les plus importants sont l'harmine, l'harmaline, l'harmol et l'harmalol comme cela a été déjà signalé pour la première fois par **Goebel, 1841 (Merck Index, 1989)** et repris par de nombreux auteurs. Son intérêt pharmacologique n'est plus à démontrer : elle présente une activité antivirale (**Rashan et Adaay, 1989**) et abortive chez le rat.

Dans le cadre de notre recherche de produits naturels utilisables comme antibactériens, *Peganum harmala L.* s'est avéré très efficace, Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'effets de *Peganum harmala* sur le *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

La présente étude a démontré une bonne activité antibactérienne de l'extrait de graine de *Haramala* à différentes concentrations contre les souches cliniques de l'infection causée par *staphylococcus* doré, ce qui est conforme aux résultats d'autres études menées en Iran ou L'activité antibactérienne du phylloxéra observée peut être due à la présence d'une grande quantité de polyphénols, connus pour avoir une activité antibactérienne efficace.

Nos résultats ont indiqué qu'une concentration de 12,5 mg / mL de l'extrait avait la plus grande activité antibactérienne contre les souches de d'infection causée par *staphylococcus*

doré. La valeur est inférieure à la valeur précédente rapportée par **Amel et al.** Qui a montré qu'une concentration de 100 mg / mL d'extrait de graines de Harmala inhibait la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Ils ont également montré une activité antibactérienne plus élevée de l'extrait de graine contre les souches Gram-positives, en particulier *S. aureus*, par rapport aux souches Gram-négatives testées.

Des preuves scientifiques ont démontré que l'extrait éthanolique de graines de haramel ont de puissants effets antibactériens sur les souches de l'infection causée par *staphylococcus* doré, Dans l'étude de **Hassan Ali et al** en 2011, menée pour évaluer l'efficacité de certains extraits de plantes médicinales contre des isolats cliniques, le haramel s'est avéré être efficace contre *S. aureus*.

Cependant, il existe des résultats contradictoires sur les effets inhibiteurs de différents extraits de *Peganum Harmala*. Une étude comparant les activités antibactériennes, virales et antioxydantes de différents extraits de *Peganum Harmala L* a montré que l'extrait de chloroforme avait la meilleure activité antibactérienne et que l'extrait de méthanol avait la meilleure activité antivirale. L'extrait de chloroforme peut être une forme importante de composé antibactérien contre les bactéries à Gram positif. L'étude des activités biologiques du phylloxéra a prouvé que les extraits de chloroforme, d'acétate d'éthyle, de butanol et de méthanol des feuilles de la plante haramel ont des activités antifongiques. Les extraits chloroformiques et méthanoliques représentent une activité antibactérienne plus importante sur les bactéries Gram-positives que sur les bactéries Gram-négatives. De plus dans une autre étude, il a été démontré que l'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique était supérieur à celui de l'extrait méthanolique de *P. Harmala* contre *S. aureus* (**Haider S.Abdulhussein** ,2019) .

Le meilleur rendement a été enregistré avec l'extrait méthanolique 19.805% suivi par celui de l'extrait éthanolique 18,204% et enfin l'extrait aqueux 8%.

Selon les résultats que nous avons obtenus sur l'effet de l'extrait méthanolique des graines de *Peganum harmalan* avec des diamètres allons de **8,5±0,5 à 21±1**. Ceux-ci ont démontré une activité antibactérienne plus faible par rapport à ceux obtenus dans une étude de **Rebbouh Fatima et Djafar Imen** (2016) sur l'effet antimicrobien de *Peganum harmala* sur les isolats de *staphylococcus aureus* ces dernières ont enregistré des zones d'inhibition avec des diamètres variant de 32.08±0.08 à 20.26±0 mm de diamètre.

Nos résultats corroborent avec ceux de **Moghadam et al.**, (2010) qui ont rapporté un effet inhibiteur dose dépendante de l'extrait éthanolique des graines de *P. harmala* contre 9 souches de *staphylococcus aureus* méticilline résistantes (SARM) dont les diamètres d'inhibition varient entre 28 à 15mm et les concentrations de l'extrait entre 50 à 450 mg /ml.

D'après les résultats du tableau N°06, l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux était modérément inférieure en comparaison avec l'extrait éthanolique et l'extrait méthanolique.

Des résultats similaires ont été rapportés par **benhidj-benyounes et Dahmane** (2013) qui ont enregistré un effet inhibiteur de l'extrait aqueux des graines de *P. harmala* sur *Staphylococcus. Aureus* et *Escherichia coli* avec des zones d'inhibition d'un diamètre de 9 et 9.06 mm, respectivement. L'extrait éthanolique, par contre à exercer un pouvoir inhibiteur avec des diamètres de 8 à 25mm pour *C. pseudotuberculosis*, respectivement.

Dans notre étude l'extrait méthanolique des graines de *peganum harmala* était actif contre *C.pseudotuberculosis*. Dans une autre étude réalisée par **EL-Abed** et ses collaborateurs (2014), l'extrait méthanolique des graines de *peganum harmala* était actif contre *Escherichia. Coli* par contre l'extrait aqueux n'avait aucun effet sur la même souche.

Selon les résultats que nous avons obtenus l'extrait aqueux des graines de *P.harmala* exerce une activité antibactérienne très faible avec des zones d'inhibition d'un diamètre de 0 et 12mm.

Dans son étude **Al-Izzy** (2010) a rapporté que l'extrait aqueux des graines de *P.harmala* exerce une activité antibactérienne plus faible par rapport à l'extrait éthanolique. En effet, une concentration de 50% de l'extrait aqueux contre les souches de *lactobacillus* et *candida* isolées de la salive a donné des zones d'inhibition avec des diamètres de **22.7±1.24** et **21.4 ±0.45mm**, respectivement des diamètres de **28,7±0,45** et **31,2±0.59mm** obtenus avec l'extrait éthanolique

Nos résultats montrent que l'extrait méthanolique des graines de *P. harmala* possède une activité antibactérienne contre la souche *Corynebacterium pseudotuberculosis* avec des diamètres variants de **8.5±21** à **21±1mm**.

De plus, la souche *Corynebacterium pseudotuberculosis* utilisées dans notre étude a été sensible à cet extrait, ces résultats sont largement inférieur à ceux obtenus dans d'autres études de **Rebbouh Fet Djafar I** (2016) faites sur l'extrait méthanolique vis-à-vis des deux souche de *S.aureus* avec des diamètres compris entre **20,26±0.265** et **32.43±2.63** mm.

Parallèlement il ont utilisées deux souche de *E.coli* (*E. coli* ATCC25922 ET *E. coli* isolat) sensible mais avec des zones d'inhibition inférieure à celle obtenues pour *S.aureus* et celle que nous avons obtenus dans notre étude de l'extrait méthanolique sur le *Corynebacterium pseudotuberculosis*, variant de 18.75 ± 1.5 à 29.5 ± 1.06 mm. Cette étude confirme les résultats obtenus par **Gamah** (2010) qui a trouvé que *S. Aureus* et *E. coli* étaient sensible à l'extrait méthanolique de *peganum harmala L* avec des diamètres de 24 ± 1.2 mm et 28.4 ± 1.6 mm, respectivement.

En revanche, nos résultats ainsi que les résultats de **Rebbouh F et Djafar I** (2016) sont supérieurs à ceux obtenus par **Darabpour et ses collaborateurs** (2011) qui ont noté un effet inhibiteur de l'extrait méthanolique (80%) des graines de *P.harmala* contre les isolats cliniques de *S.aureus* et d'*E.coli* avec des zones d'inhibition de 15 à 22mm pour *S.aureus* et de 13 à 22 mm pour *E.coli*. Les résultats que nous avons obtenus ne sont en concordance avec ceux de **Rebbouh F et Djafar I** (2016) par contre il ne sont pas en concordance avec ceux obtenus par **el-abad et ses collaborateurs** (2014) qui ont noté une activité antibactérienne modérée de l'extrait méthanolique contre une souche *E.coli* de référence avec une zone d'inhibition de 12mm de diamètre par contre, les mêmes auteurs ont signalé un pouvoir inhibiteur nul vis-à-vis d'une souche *S.aureus* de référence aucune zone d'inhibition.

L'activité antibactérienne de *peganum harmala L* est principalement attribuée à ses ingrédients actifs : les polyphénols et surtout les alcaloïdes. En effet, les graines de *peganum haemala* sont riches en certains alcaloïdes comme l'harmaline, l'harmine et l'harmane qui sont dotés de propriétés antibactériennes **Benhidj-Benyouneset Dahmene**, (2013).

À travers toutes ces recherches qui ont été menées dans des laboratoires internationaux sur plusieurs années, nous avons conclu que *peganum harmala* est efficace pour traiter plusieurs maladies, nous avons donc voulu découvrir, pour la première fois, l'effet de cette dernière sur le *Corynebacterium pseudotuberculosis* et son efficacité dans le traitement de lymphadénite caséuse sachant que les antibiotiques et les anciens traitements traditionnels ne sont pas suffisants pour traiter cette maladie, car la médecine alternative n'est pas du tout contradictoire avec la médecine ordinaire, mais plutôt elles se complètent.

CONCLUSION

Conclusion :

A la lumière de ces résultats nous avons pu montrer que l'extrait méthanolique de *Pegalum Harmala* possède un effet important contre *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

Les extraits méthanolique (EM) et éthanolique (EE) ont une bonne activité antibactérienne à l'exception de l'extrait aqueux (EA) dont l'effet antibactérien est très faible.

Ce travail va nous ouvrir des horizons de recherche ciblés dans le domaine des plantes utilisées en médecine traditionnelle, notamment en termes de mise en évidence des principes actifs et évaluation de leurs activités biologiques.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent à être exploitées par des recherches plus approfondies, et sachant que les animaux destinés à la consommation humaine sont traités par des antibiotiques qui laissent des résidus au niveau de la viande et engendrent par la suite des résistances chez le consommateur.

A ces effets, il est important de :

- ▶ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pouvant répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif aux médicaments synthétiques.
- ▶ Développer des médicaments antibactériens à base de plantes.
- ▶ Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation d'études approfondies et complémentaires qui seront nécessaires pour confirmer les performances mises en évidence.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques:

1. **ABDULRIDHA, M. M., ABDULHUSSEIN, H. S., ALYASEEN, F. F., & HASSAN, B. A.** (2019). phytochemical and antibacterial activity of the pegnum harmala seeds and its alkaloids. *Plant Archives*, 19(1), 1439-1444.
2. **ACHOUR S, AADI H , TURCNT A, BANANI A, MOKHTARI A, SOULAYMANI A, SOULAYMANIK ADAAY, M.M.** (1994). Some observations on the reproduction toxicity of the aqueous extract of Peganum harmala seeds. *Fitoterapia*, 65: 214-218
3. **AI-GAABARY, M. H., OSMAN, S. A., & OREIBY, A. F.** (2009). Caseous lymphadenitis in sheep and goats : Clinical, epidemiological and preventive studies. *Small Ruminant Research*, 87(1- 3), 116-121.
4. **AL-LZZY (2010)**. Phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *Peganum harmala* l. récoltées dans la region de M'sila. *Sciences et Technologie*.38 :27-37.
5. **AOUADHI S.** (2010). Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. à l'étude de 57
6. **BAIRD, G.** (2006). Treatment of ovine caseous lymphadenitis. *The Veterinary Record*, 159(15), 500.
7. **BELLAKHDAR, J.** (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires, 189
8. **CHIRINO-ZÁRRAGA, C., SCARAMELLI, A., & REY-VALEIRÓN, C.** (2006). Bacteriological characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Venezuelan goat flocks. *Small Ruminant Research*, 65(1-2), 170-175.
9. **CHOPRA, I C, ABRAL, B K, HANDA, K L** (1960) Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique. Ed. UNESCO, p 48
10. **CLEMENCE G** (2013), les infections dues à *Corynebacterium pseudotuberculosis* chez les ruminants, Thèse doctorat vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort, 2013, 61p.
11. **CONNOR, K. M., QUIRIE, M. M., BAIRD, G., & DONACHIE, W.** (2000). Characterization of United Kingdom Isolates of *Corynebacterium pseudotuberculosis* Using Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(7), 2633-2637.
12. **CRAPELET C., and M. THIBIER,** (1980) .Le mouton. Magdy H. Al-Gaabary, Salama A. Osman*, Atef F. Oreiby
13. **DARABPOUR, E., Bavi, A. P., MOTAMEDI, H., & NEJAD, S. M. S.** (2011). Antibacterial activity of different parts of Peganum harmala L. growing in Iran against multi-drug resistant bacteria. *EXCLI journal*, 10, 252.

14. **DAVIS, E.W., (1990).** *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in animals. In: B.P. Smith, Editor, *Large Animal Internal Medicine*, C.V. Mosby Company, Toronto, pp. 1120– 1126.
15. **DERCKSEN, D. P., BRINKHOF, J. M., DEKKER-Nooren, T., van MAANEN, K., BODE, C. F., BAIRD, G., & KAMP, E. M. (2000).** A comparison of four serological tests for the diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. *Veterinary Microbiology*, 75(2), 167-175.
16. **EI-ABED N.,GUESMI F., MEJRI M, MARZOUKI Mn ,BEN HADJ Ahmed, S (2014).** phytochemical screening and assessment of antioxidant , antibacterial and cytotoxicityactivities of five tunisianmedicinal plants.international journal of pharmaceuticalresearch and bio-science.Vol3(4) :770-789 .
17. **ELLIS,J.A., HAWK,D.A., HOLLER,L.D., MILLS,K.W., and PRATT, D.L.,(1990).** Differential antibody responses to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep with naturally acquired caseous lymphadenitis, *Journal of the American Veterinary Medical Association*196 pp. 1609–1613. *Fitoterapia* 71: 50-54.
18. **HAIDER S. ABDULHUSSEIN (2019),** « hytochemical and antibacterial activity of thepegnum harmala seeds and its alkaloidsmaitham », phytochemical and antibacterial activity of the pegnum harmala seeds and its alkaloids, vol19, 19no, 2019pp, 1439-1444.
19. **HAMMICHE V, MERAD R. (1997)** Peganum harmala L. Laboratoire de botanique médicale, plantes recommandées par les herboristes. Faculté de médecine de Tunis - Master,104-106. 15-166 p
20. **HASSAN Ali et al (2011)** E-banking functionality and outcomes of customer satisfaction : An empirical investigation, 3(1) :50-65
21. **HENDERSON,A (1979).**Pseudotuberculous adenitis caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Journal of Medical Microbiology* 12 pp. 147–149.
22. **HESAMI, S., PARKMAN, J., MACINNES, J. I., GRAY, J. T., GyLes, C. L., & LUMSDEN, J. S. (2010).** *Antimicrobial Susceptibility of Flavobacterium psychrophilum Isolates from Ontario. Journal of Aquatic Animal Health*, 22(1), 39–49.
23. **K. GHEDIRA .(2005à.**Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Pharmacie, rue Avicenne, 5000 Monastir, Tunisie Phytothérapie , pp 4: 162-169
24. **KARTAL M, ALTUN ML, & KURUCU S. (2003).** HPLC method for the analysis of Harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. *Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis*, 31: 263-269.
25. **LAMCHOURI F, SETTAF A, CHERRAH Y, HASSER M, ZEMZAMI M, ARIF**

- N, **NADORI EB, Zaid A, LOPEZ,J.F., WONG,F.M., and QUESADA, J.**, (1966). *Corynebacterium pseudotuberculosis*. First case of human infection, *American Journal of Clinical Pathology* 46 pp. 562–567.
26. **LYOUSSI, B** (2000). *In vitro* cell toxicity of *Peganum harmala* alkaloids on cancerous cell lines.
27. **M.C. FONTAINE, G.J. BAIRD** (2008). Caseous lymphadenitis. Moredun Research Institute, International Research Centre, Pentlands Science Park, Bush Loan, Penicuik EH26 0PZ, Scotland, UK : G. Fthenakis, P 42-48, pages 45.
28. **M.C. FONTAINE, G.J. BAIRD** (2008) Recherche sur les petits ruminants 76 42–48 pages 43.
29. **MAGDY H. AL-GAABARY, SALAMA A. OSMAN*, ATEF F. OREIBY MAHMOUDIAN M, JALIPOUR H, DARDASHTI, PS.** (2002). Toxicity of *Peganum harmala*: review and a case report. *Iran. J. Pharmacol. Ther* 1, 1-4.
30. **MERCK INDEX.** (1989). An Encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 11eme édition. S. Budavari. Rahway, N.J., U.S.A., 1606 pp .
31. **MILLS,A.E., MITCHELL,R.D., AND LIM,E.K.**,(1997). *Corynebacterium pseudotuberculosis* is a cause of human necrotising granulomatous lymphadenitis, *Pathology* 29 pp. 231–233.
32. **CHIKHAOUI MIRA AND FATIMA BENCHAI B KHOUDJA**,(2013) Clinicopathological investigation on caseous lymphadenitis in local breed sheep in Algeria *Tropical Animal Health and Production*, vol 45(4), 2013.
33. **MOGHADAM, M. S., MALEKI, S., DARABPOUR, E., MOTAMEDI, H., & NEJAD, S. M. S.** (2010). Antibacterial activity of eight Iranian plant extracts against methicillin and cefixime resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(4), 262-265.
34. **MOHAN, P., VATHSALA, M., & JAYAPRAKASAN, V.** (2008). Comparative characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from goats in Kerala, India and reference strain. *Small Ruminant Research*, 74(1-3), 226-230.
35. **NAVARRE, W. W., & SCHNEEWIND, O.** (1999). Surface proteins of gram-positive bacteria and mechanisms of their targeting to the cell wall envelope. *Microbiology and molecular biology reviews*, 63(1), 174-229.
36. **OZENDA P** (1977) Flore du Sahara, Ed. du CNRS, pp 312-322
37. **OZENDA P.** 1991. Flore et végétation du Sahara 3ème édition, augmentée. Ed CNRS, Paris,

38. **PATON, M. W., COLLETT, M. G., PEPIN, M. and BATH, G. F.** (2005). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections. In: *Infectious Diseases of Livestock*, 3rd Edit., J.A.W. Coetzer and R.C. Tustin, Eds, Oxford University Press Southern Africa, Cape Town, pp. 1917–1930
39. **PEEL, M.M., PALMER, G.G., STACPOOLE, A.M., and KERR, T.G.**, (1997). Human lymphadenitis due to *Corynebacterium pseudotuberculosis*: report of ten cases from Australia and review, *Clinical Infectious Diseases* 24 pp. 185–191.
40. **QUEZEL P & SANTA S** (1963) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. du CNRS, Vol.2, pp 59.
41. **RASHAN, I.J. ET ADAAY, M.H.** (1989). In vitro antiviral activity of the aqueous extract from the seeds of *Peganum harmala* L. *Fitoterapia*, 60: 365-367.
42. **REBBOUH F et DJAFAR I**, (2016) « Evaluation de l'effet antibactérien des extraits des graines de *Peganum harmala* L », Mémoire de Master en science biologique, Tiaret, Université Ibn khaldoun-Tiaret, (2016), p 36.
43. **RIEGEL, P.** (2006). Actualités de l' épidémiologie et du rôle pathogène des corynébactéries. *Antibiotiques*, 8(3), 153-161.
44. **ROTA, M. C., HERRERA, A., MARTÍNEZ, R. M., SOTOMAYOR, J. A., & JORDÁN, M. J.** (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food control*, 19(7), 681-687.
45. **SIDDIQUI, S., KHAN, O.Y., FAIZI, S. ET SIDDIQUI, B.S.** 1988. Studies in the chemical constituents of the seeds of *Peganum harmala*: Isolation and structure elucidation of two β -carboline lactams, harmalanine and harmalacidine. *Heterocycles*, 27: 1401-1410.
46. **Smith, M.C, Sherman, D.M,** (2009). *Goat Medicine*, 2nd ed. Ames: Wiley-Blackwell, 1- 888.
47. **WILLIAMSON, L. H.** (2001). Caseous lymphadenitis in small ruminants. *Veterinary clinics of North America : Food animal practice*, 17(2), 359-371.
48. **YAKHLEF, G.** (2010). étude de l'activiste biologique des extraits de feuilles DE *Thymus vulgaris* L. ET *Laurus nobilis* L (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
49. **SARNI-MANCHADO P, CHEYNIER V.** Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 2006, 300-398
50. **VERMERRIS W., NICHOLSON R.** (2006) Phenolic compound biochemistry, *Springer*. PP: 69-149
51. **URQUIAGA I. N. E. S. AND LEIGHTON F. E. D .**(2000). E. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res.*; 33: 55-64

52. **HOFFMANN, D.** (2003). Medical Herbalism : The Science and Practice of Herbal Medicine. Edition Inner Traditions / Bear & Co., p 90.
53. **DI CARLO G., MASCOLO N., IZZO A.A., CAPASSO F.,** (1999). *Rev. Life Sci.*, 65, 337-53
54. **NAIR S, GUPTA R** (1996) Dietary antioxidant flavonoids and coronary heart disease. *J Assoc Physicians India* 44: 699-702 58.
55. **LAINE E, HANO C, LAMBLIN F.**(2007), Les lignanes phyto-œstrogènes du lin sont ils des bienfaiteurs méconnus ? *Phytothér*, 5: 121-8.
56. **LU, F.; ZAHID, M.; WANG, C.; SAEED, M.; CAVALIERI, E.L.; ROGAN, E.G.** (2008), Resveratrol prevents estrogen-DNA adduct formation and neoplastic transformation in MCF- 10F cells. *Cancer Prev. Res.* 2008, 1, 135–145. [CrossRef] [PubMed] .
57. **FRASSINETTI, S.; DELLA Croce, C.M.; CALTAVUTURO, L.; LONGO, V.** (2012), Antimutagenic and antioxidant activity of Lisosan G in *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chem.* 2012, 135, 2029–2034. [CrossRef] [PubMed]
58. **BASHEER, L.; KEREM, Z.** (2015) Interactions between cyp3a4 and dietary polyphenols. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015, 2015, 854015. [CrossRef] [PubMed] *Nutrients* 2016, 8, 581 22 of 37
59. **KOU, X.; KIRBERGER, M.; YANG, Y.; CHEN, N.**(2016) Natural products for cancer prevention associated with nrf2-ARE pathway. *Food Sci. Hum. Wellness* 2013, 2, 22–28.
60. **COWAN, M.M.** (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4): 564- 582.
61. **NGUZ K.** (1996). Evaluation De La Degradation Des Tannins. *Phytochimiques.* 225 230.
62. **GUERGOUR. H.,**2018. Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmaco toxicologiques de la plante *Peganum harmala*. *Mémoire université* Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Pp 107.
- 63. Site web :**
64. Colonies de *C.pseudotuberculosis* sur gélose au sang de mouton 97, (2015), medically important- gram-positive bacteria . –www.micrbiologyinpictures.com
65. *Rollins and S.W. Joseph August* (2000). Gram stain of *Corynebacterium* spp. demonstrating "Chinese letters" formations *D.M.* <http://life.umd.edu/classroom/bsci424>

ANNEXES

Annexe N°1 composition des principaux milieux de culture utilisés.

Milieux solides

Gélose Muller-Hinton

Sa formule (en gramme par litre d'eau distillée) est suivante :

Infusion de viande de bœuf 2g/l

Hydrolysate de caséine... 17.5g/l

Amidon... 1.5g/l

Agar...17g/l

Le ph=7.4 stérilisations à 121°C/15 min

Gélose nutritive (GN)

Sa formule (en gramme par litre d'eau distillée) est suivante :

Peptone de gélatine... 5g/l

Extrait de viande 03g/l

Extrait de levure 03g/l

Chlorure de sodium...05g/l

Agar 18g/l

Le ph=7.3 stérilisations à 121°C/15 min

Gélose au sang

Columbia au sang

Peptones 23 g/l

Amidon 1 g/l

Chlorure de sodium 5 g/l

Agar 10 g/l

Sang 50ml

Le ph=7.3

Annexe N°2 : Identification bactérienne

Examen macroscopique : Les colonies bactériennes ont été examinées macroscopiquement *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Examen microscopique Coloration de Gram

- Préparer un frottis d'une culture bactérienne pure
- Recouvrir le frottis de violet de Gentiane ; laisser agir 1 minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Verser du Lugol et le laisser agir pendant 1 minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 secondes ; rincer à l'eau distillée ;
- Recolorer avec de la fuchsine pendant 10 à 30 secondes ; rincer à l'eau distillée.
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.
- Observer au microscope à l'objectif x100 à immersion.

