



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ IBN-KHALDOUN - TIARET-

ANNEXE SOUGUEUR

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Pour l'obtention du diplôme de Master

Filière : CHIMIE

Spécialité : Chimie Organique

Par :

BOUROKBA SIHAM & CHERIF SIDAHMED

THÈME

L'Etude biologique de l'extrait méthanolique de la plante médicinale *Artemisia Herba Alba.* et comparer son efficacité à certains antibiotiques.

Devant le jury :

Soutenu le : 12 / 07 /2021

Mme LAOUD .A

M. C.B

Université de Tiaret

Présidente

Mr GHAZI. R

M. C.B

Université de Tiaret

Examineur

Mr ATMANI . A

M. C.B

Université de Tiaret

Encadreur

La saison universitaire
2020/2021

Remerciements

À l'issue de cette fin d'étude, nous adressons nos sincères remerciements premièrement à « Allah » tout puissant qui nous a donné la santé, la patience et le courage.

Nous exprimons nos remerciements et notre profonde gratitude à notre promotrice Mr ATMANI.A, pour avoir accepté de nous encadrer, pour l'aide qu'elle nous a apporté.

Nos vifs remerciements s'adressent aux membres de jury pour avoir accepté de juger ce travail : Mme LAOUD.A et Mr GHAZI .R, pour l'honneur qu'ils nous ont accordé en examinant ce modeste travail.

Nous tenons également à remercier toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*Merci à ma famille pour son soutien et en particulier mes
Très chers parents pour leurs conseils et leurs encouragements
durant toutes mes études. Ce travail est le fruit de tous vos
sacrifices, que Dieux vous garde longtemps près de nous.*

*A mes chères sœurs pour leurs encouragements permanents et
leur soutien moral.*

A mes chers frères pour leur appui et leurs encouragements.

A mes amis (es).

*A tous ceux qui nous ont aidés pour réaliser ce travail de près ou
de loin.*

A toute ma promotion du Master

*« Rien n'est près, rien n'est loin, tout est une question de
volonté » Jérôme Treffel*

SIHAM

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A mes chers frères pour leur appui et leurs encouragements.

A mes chers collègues de travail laboratoire Epsp Ain Deheb, Laboratoire privé Saidi et Maachi.

A tous mes ami(e)(s) sans exception.

A tous ceux et toutes celles qui m'ont accompagné et soutenu durant ces années.

SIDAHMED

Résumé :

Le présent travail vise principalement à étudier et de comparer les activités antibactériennes des extraits (EtOH / eau), de plante *Artemisia herba alba* contre quatre souches de bactéries: *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Klepsiella pneumanie* et *Enterobacter* en utilisant la méthode de diffusion.

Les résultats ont révélé que tous les extraits présentent une certaine activité biologique contre les bactéries . En outre, les extraits (EtOH/eau) ont montré une activité plus élevée , où l'activité maximale a été enregistrée contre *Pseudomonas aeruginosa* avec les extraits (EtOH / eau),

La combinaison de *Artemisia herba alba* avec chacun des antimicrobes standards: *Erythromycine (E)*, *Gentamicine (GEN)*, *Spiramycine (SR)*, *Colistine (CL)*, *Amoxicilline + acide clavulanique (AMC)*, *Norfloxacin (NOR)* étaient plus actifs et ont montré des effets synergiques importants. En outre, des extraits *Artemisia herba alba* (EtOH/eau) de plantes médicinales.

a montré aussi des effets synergiques élevés. Les résultats obtenus dans la présente étude suggèrent que *Artemisia herba alba* peuvent être utilisés dans le traitement des maladies causées par les organismes testés. D'autres investigations pharmacologiques et chimiques peuvent être effectuées pour isoler et identifier les constituants chimiques dans les plantes sélectionnées responsables de l'activité antimicrobienne.

Les mots clés : Extrait , *Artemisia herba alba* , antibiotique .

ABSTRACT

The present work is aimed mainly to investigate and compare the antibacterial activities of (EtOH/water), extracts of *Artemisia herba alba* roots leaves against Four bacteria strains: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter* using Disc diffusion method.

The results revealed that all extracts exhibited a certain bioactivity against all bacteria . Moreover the (EtOH/water) extracts showed higher activity , where the maximum activity was recorded against *Pseudomonas aeruginosa* with the (EtOH/water) extracts.

The combination of *Artemisia herba alba* with each of the standard antimicrobials:

Erythromycin (E), Gentamicin (GEN), Spiramycin (SR), Colistin (CL), Amoxicillin + clavulanic acid (AMC), Norfloxacin (NOR) were most active and showed significant synergic effects.

The results obtained in the present study suggest that *Artemisia herba alba* can be used in treating diseases caused by the tested organisms. Further chemical and pharmacological investigations may be carried out to isolate and identify the chemical constituents in the selected plants responsible for the antimicrobial activity.

المخلص

الهدف الرئيسي من هذا البحث هو مقارنة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا لمستخلصات (إيثانول/ ماء) لنبات الشيح، مع أربعة أنواع من البكتيريا :

Escherichia coli , *Pseudomonas aeruginosa* , *Klepsiella pneumanie*, *Enterobacter*

أظهرت النتائج أن كل المستخلصات لها فعالية بيولوجية ضد كل البكتيريا المدروسة بالإضافة إلى أن مستخلصات (إيثانول/ ماء) أعطت فعالية بيولوجية أعلى ضد البكتيريا :

Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli*, *Klepsiella pneumanie*

كذا الفعل التأزري لمستخلص (إيثانول/ الماء) لجذور نبات الشيح مع المضادات الحيوية :

Erythromycine (E), *Gentamicine (GEN)*, *Norfloxacin (NOR)*, *Spiramycine (SR)*,
Colistine (CL), *Amoxicilline + acide clavulanique (AMC)* .

حيث بينت في مجملها فعل تأزري معتبرا . كما أن مستخلص (إيثانول/ ماء) لجذور نبات الشيح أعطى فعل تأزري عالي .

من خلال النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة يمكن الإقتراح أن نبات الشيح يمكن أن يعالج الأمراض التي تسببها البكتيريا المدروسة، ونحتاج أكثر إلى الدراسة الكيميائية والصيدلانية لإستخلاص وتحديد المكونات الكيميائية المسؤولة على الفعل التأزري وكذا الفعالية البيولوجية للنبات المختار في هذه الدراسة.

Table des matières

Liste des tableaux	11
Liste des figures	12
Liste des abréviations	13
Introduction	15

<i>Première partie: Etude bibliographique</i>	
chapitre I : Généralités sur La plante : <i>Artémisia herba alba</i>	
I- les plantes médicinales	19
I- 1- La phytothérapie	19
I -2-Définition	19
I -3- Parties de plantes médicinales utilisées	20
I-4- Conseils et préparation des plantes médicinales	21
I-4-1- La récolte des plantes	21
I-4- 2- Séchage et conservation des plantes	22
I-5-Méthodes d'extraction des plantes médicinales	22
II - Armoise blanche (<i>Artemisia herba alba</i>)	26
II -1-Généralités	26
II-2-Origine	26
II-3-Répartition géographique	26
II-4- Description botanique	27
II-4- Classification de <i>l'artemisia herba alba</i>	29
II--5- Biologie	30
II-6-Ecologie	31
II-7- -Métabolites des plantes	31
II-7-1- Les métabolites primaires	31
II-7-2-Les métabolites secondaires	32
II-7-2-1-Les composés phénoliques	32
II-7-2-2-Les tanins	33
II-7-2-3-Les flavonoïdes	34
II-7-2-3-Les saponines	35
II-7-2-3-La chlorophylle	36
II-7-2-4-Les Huiles essentielles	37
II-7-2-4-1-Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles	37
II-7-2-4-2-Huiles essentielles de <i>l'Artemisia herba alb</i>	38
II-8-Intérêt de la plante	38
II-8-1-Indusriel	38
II-8-2-Médicinale	38
II-8-3-Culinaire	38
II-9-Toxicité de la plante	39
Chapitre II : Généralités sur les alcaloïdes	
II -1 -Introduction	41
II-2- Définition des Alcaloïdes	41
II-3- Structure des alcaloïdes	42

II-4 -Sources biologiques des alcaloïdes	42
II-5- Classification des alcaloïdes	43
II-6-Propriétés physico-chimiques	46
II-7-Rôle des alcaloïdes dans la plante	47
II-8-Biosynthèse des alcaloïdes	47
II-9-Propriétés pharmacologiques et applications	48
II-10- Localisation des alcaloïdes	49
II-11- Extraction des alcaloïdes	49
II-12- Détection des alcaloïdes	50
II-13- conclusion	50
Chapitre III : Les activités antibactériennes	
III-1- Introduction	52
III-2- Les infections bactériennes	52
III-3- Rappel sur les bactéries	52
III-4- Exemple de classification des bactéries	53
III-5- Les Antibiotiques	54
III-5- 1- Définition	54
III-5- 2- Choix d'un antibiotique	54
III-5- 3- Action de l'antibiotique sur une bactérie	54
III-5- 4- Classification	55
III-5- 5-Bactériostatique et bactéricide	55
III-5- 6-Bactériostase	55
III-5- 7-La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	56
III-5- 8- Antibiogramme	56
III-5- 9-Bactéricide	57
III-5- 10-Concentration Minimale Bactéricide (CMB)	57
III-5- 11-Mode d'action des antibiotiques	57
III-6- Caractéristiques des souches bactériennes utilisées	58
III-7-Résistances aux antibiotiques	59
III-7-1- Définition	59
III-7-1- Mode de résistance des antibiotiques	59
III-7-2- Mécanisme de résistance	60
III-8-conclusion	61
<i>Deuxième partie : Partie expérimentale</i>	
Chapitre IV : Matériels et méthodes et Discussion des résultats	
IV-1- Appareils et matériaux utilisés dans le travail	65
IV-2-les étapes de travail les plus importantes	67
IV-3- Traitement des échantillons	69
IV-3-1-Récolte de l'échantillon	69
IV-3-2-Le séchage	69
IV-3-3-Broyage d'échantillons	69
IV-4- Détection chimique de certaines substances actives dans les racines de la plante <i>Artemisia Herba alba</i>	70
IV-4-1- Test des glycosides	70
IV-4-2- Test des phénols	70
IV-4-3- Test des alcaloïdes	70

IV-4-4- Test des terpènes et des stéroïdes	70
IV-4-5- Test des résines	70
IV-4-6- Test des saponines	70
IV-4-7- Test des Tannins	71
IV-4-8-Test des flavones	71
IV-4-9- Test des coumarines	71
IV-4-10- Test des huiles volatiles	71
IV-5-Extraction de la plante avec un solvant organique	73
IV-5-1-Méthode d'extraction	73
IV-6- L'étude de l'activité biologique <i>d'Artemisia Herba alba</i>	73
IV-5-2-1- Mode opératoire	74
IV-7-L'étude de l'activité biologique des antibiotiques	76
IV-8-Etude de l'effet synergique entre l'extrait des racines <i>d'Artemisia</i> et les antibiotiques	78
IV-8-1- Discussion des résultats	79
Conclusion	83
Références bibliographiques	85

<i>Liste des tableaux</i>	
Tableau 01: classification de l'armoise blanche.	31
Tableau 02 : Activités biologiques des composés polyphénoliques	34
Tableau 03: Structure des alcaloïdes	34
Tableau 04 : Classification des alcaloïdes	45
Tableau 05: résultats de la détection chimique préliminaire de certaines substances actives dans les racines de la plante <i>Artemisia</i>	72
Tableau 06:Taux de diamètres d'inhibition pour d'extrait (Ethanol /eau) de plante <i>Artemisia Herba Alba</i> vis-à-vis bactéries	75
Tableau 07 : taux des diamètres d'inhibition des antibiotiques (en millimètre) contre les bactéries	77
Tableau 08: taux des diamètres d'inhibition de l'antibiotique en (mm) contre les bactéries	78
Tableau 09 : comparaison des taux des diamètres d'inhibition des antibiotiques avec leur mélange et l'extrait des racines de la plante <i>Artemisia Herba Alba</i> (en mm) contre les bactéries	80

<i>Liste des figures</i>	
Figure 01 : schéma du principe de la technique d'hydrodistillation	25
Figure 02 : Le principe de la technique d'extraction par CO2 supercritique	25
Figure 03 : extraction assisté par micro-ondes	26
Figure 04 : La plante <i>l'Amoise blanche</i> dans son milieu naturel à la fin de la saison de fleuraison	28
Figure 05 : Dessin de détail d'après G.POTTER, 1981 d' <i>Artémisia herba alba</i>	30
Figure 06 : Schéma représente les métabolites primaires	33
Figure 07 : structure des tanins	35
Figure 08 : Structure de base des flavonoïdes	35
Figure 09 : Structure de quelques classes de flavonoïdes	36
Figure 10 : Structure des saponines	37
Figure 11 : structure des chlorophylles a (à gauche) et b (à droite)	38
Figure 12 :Alcaloïdes de diverses provenances	44
Figure 13 : Structure des différents types d'alcaloïdes	45
Figure 14 : Origine biosynthétique des alcaloïdes	49
Figure 15 : Détermination de la CMI sur milieu liquide	57
Figure 16 : Antibiogramme	58
Figure 17 : plan de travail	68
Figure18 : La plante <i>Artemisia</i> utilisée pour l'étude	69
Figure19 : image montrant l'extrait de la plante <i>Artemisia</i>	73
Figure 20 : comment mesurer le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques d'antibiotique avec une règle	77

Liste des abréviations

ml : Millilitre

g : gramme

min : minute

°C : degré Celsius .

(E) : Erythromycine

(NOR) : Norfloxacin

(SR) : Spiramycine

(AMC) : Amoxicilline + acide clavulanique

(CL) : Colistine

(GEN). : Gentamicine

NaOH : Solution d'hydroxide de sodium

KCl : Solution de chlorure de potassium

HgCl : Solution de chlorure de mercure

HCl : Acide hydrochlorique

H₂SO₄ : Acide sulfurique concentration

Introduction

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine. La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction des substances actives. [1]

L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des maladies vient habituellement de la croyance qu'elles présentent une très faible toxicité du fait de leur origine naturelle. Selon l'organisation mondiale de la santé, autour de 80 % de la population du monde emploie la médecine traditionnelle pour le soin de santé. Ces études ont pour but d'une part, de confirmer les propriétés thérapeutiques et d'autre part l'identification des principes actifs à l'origine de vertus attribuées aux plantes.[2]

Le règne végétal représentant une source importante d'une grande variété de molécules bioactives, elles ont été mises à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes.[3]

Les alcaloïdes constituent l'une des catégories les plus larges de produits naturels, étant synthétisé pratiquement par tous les organismes vivants [4]. Ce sont des molécules bioactives à faible poids moléculaire et trouvés dans environ 20 % des espèces de plantes [5]. Parmi leurs fonctions est d'intervenir dans les relations plantes prédateurs (protection) mais jusqu'à aujourd'hui, la détermination de la fonction des alcaloïdes dans la plante reste incomplète. [6]

Actuellement, les laboratoires de biologie et de chimie à travers le monde ont emboité le pas à la médecine traditionnelle pour la recherche des voies et moyens de venir à bout des pathologies diverses, notamment le cancer qui est l'une des maladies incurables constituant la cause majeure de décès dans le monde [7]. Ceci par la recherche de nouveaux traitements anticancéreux ciblés qui représentent une alternative pour la chimiothérapie.

L'Artemisia herba alba (Armoise blanche ou Chih) qui pousse à l'état spontané dans la steppe Algérienne et au Sahara. Elle est fréquemment employée par la population contre de nombreuses pathologies telles que les aménorrhées, les syndromes neurologiques, les troubles hépatiques, les troubles gastriques et certains empoisonnements.[8]

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce présent travail structuré en deux parties :

- Une étude bibliographique mettant l'accent sur le premier chapitre présente une généralité sur les plantes médicinales, la phytothérapie et la plante sélectionnée *Artemisia herba alba*. Le second chapitre parle sur les alcaloïdes, le troisième chapitre parle sur Les activités antibactériennes.
- Une partie expérimentale incluant Le troisième chapitre porte sur l'étude de l'efficacité antibactérienne et de l'effet synergique de l'extrait (éthanol/eau) de la plante *Artemisia herba alba* avec certains antibiotiques.

Première partie

Etude

bibliographique

Chapitre I

Généralités sur La plante : Artémisia herba alba

I- les plantes médicinales

I- 1- La phytothérapie :

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes » [9]

C'est un Traitement ou prévention des maladies par l'usage de certaines parties de plantes médicinales telles que les racines, les tiges ou les feuilles. Elle fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces. D'après Zeghad.N (2008), il y'a différents types de phytothérapie : [10]

Aromathérapie : est une thérapeutique qui utilise les extraits aromatiques de plantes (essences et ou huiles essentielles), ce sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

Gemmothérapie : est une thérapeutique qui utilise les extraits alcooliques des tissus embryonnaires végétaux en croissance tel que jeunes pousses, bourgeons et les radicules.

Herboristerie : consiste dans la préparation et la commercialisation de plantes médicinales ou de préparations dérivées. La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération.

Homéopathie : elle consiste à traiter une maladie par des substances susceptibles de produire des troubles semblables à ceux déterminés par la maladie elle-même. [11]

Phytothérapie pharmaceutique : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant.

Après transformation chimique, les plantes sont vendues sous forme de tisanes, de liquide, de sachets, ou de gélules [12]

I -2-Définition :

Les plantes médicinales regroupent toutes les plantes dont l'un de leurs organes contient une ou des substances chimiques qui sont destinées à produire une activité pharmacologique. Elles représentent la forme la plus ancienne et la plus répandue de médication [13]

D'après **Odile et Daniel (2007)** [14], environ plus de 30% des médicaments contiennent des principes actifs d'origine naturelle.

I -3- Parties de plantes médicinales utilisées :

Les différentes parties de la même plante médicinale peuvent présenter des constituants chimiques très différents et qui n'ont pas la même action thérapeutique. Généralement, en médecine traditionnelle, la partie qui contient le plus de principes actifs est la plus employée.

Les différentes parties de plantes qui peuvent être employées chez la plupart des populations sont ceux qui ont été décrites par : [15]

- **Racine** : Les racines peuvent être fibreuses, solide ou charnues.
- **Rhizome** : Le rhizome est une tige ligneuse ou allongée charnue qui pousse généralement horizontalement en dessous du sol, formant des feuilles au-dessus du sol et des racines dans le sol.
- **Bulbe** : Un bulbe est une pousse souterraine verticale disposant de feuilles modifiées utilisées comme organe de stockage de nourriture par une plante à dormance. Les bulbes les plus populaires en médecine traditionnelle sont l'oignon et l'ail.
- **Tubercule** : Un tubercule est une structure charnue gonflée, généralement souterraine, qui assure la survie des plantes pendant la saison d'hiver ou en période de sécheresse.

Ces organes peuvent être formés sur les racines ou se développent sur les parties aériennes de la plante. La pomme de terre africaine (*Hypoxis* sp. De la famille *Hypoxidaceae*) est un exemple bien connu.

- **Écorce** : L'écorce est la couche protectrice externe d'un tronc d'arbre, elle est souvent riche en toxines (phénols) et principes amers (tanins) ce qui la rend plus protectrice. Exemple : (*Cinchona* sp. Rubiaceae) et (*Cinnamomum camphora* et *C. camphora* , les deux de la famille Lauraceae).
- **Bois** : Le bois est la tige épaisse ou le bois lui-même. Exemple : *Santalum album* de la famille Santalaceae.
- **Feuilles** : Les feuilles peuvent être utilisées seules ou mélangées avec leur pétiole. Exemple :
Ginkgo biloba de la famille Ginkgoaceae
- **Gommes** : les gommes sont des composés solides constituent d'un mélange de polysaccharides. Ils sont solubles dans l'eau et partiellement digérés par les êtres

humains. Exemple (*Acacia Senegal*; *Terminalia bentzoe*).

- **Huiles essentielles** : Exemple (*Mentha x piperita*; *Cananga odorata*).
- **Les parties aériennes** : Toutes les parties de la plante qui se trouvent au-dessus du sol. Elles sont récoltées, très souvent, lors de la floraison. Exemple : *Hypericum perforatum* de la famille Hypericaceae.
- **Fleurs** : Les fleurs sont très utilisées dans la médecine traditionnelle.
- **Fruits** : Exemple (*Punica granatum* ; *Citrus sp*).
- **Graines** : Exemple (*Ricinus communis*; *Foeniculum vulgare*).

I-4- Conseils et préparation des plantes médicinales :

I-4-1- La récolte des plantes :

La récolte des plantes médicinales est une étape très importante, notamment en médecine traditionnelle. Elle doit être effectuée au moment le plus favorable afin de conserver l'efficacité des principes actifs.

Certaines plantes peuvent être cueillies toute l'année, mais la plupart doivent être récoltées à un moment précis de leur croissance pour être utilisées immédiatement ou conservées [16]

Les auteurs de cette référence ont proposés quelques conseils pour faire une meilleure récolte :

- Identifier les plantes, ne jamais cueillir une plante dont on n'est pas sûr.
- Ne pas cueillir les plantes sauvages rares ou inhabituelles.
- Ne pas ramasser de plantes au bord des routes, à proximité des usines ou dans les zones où sont vaporisés des insecticides sur les cultures.
- Utiliser, si possible, un panier ouvert pour y déposer les plantes, ce qui évite de les abîmer.
- Dans la nature, un sac à dos (évités le Nylon) ou un sac en toile sera plus pratique.
- Récolter uniquement des plantes saines.
- Récolter les plantes par temps sec, plutôt par une matinée bien ensoleillée

I-4- 2- Séchage et conservation des plantes :

a)- Séchage:

Le séchage des plantes médicinales est, normalement, effectué juste après la récolte, il permet de réduire la teneur en eau afin de limiter les dégâts dus aux enzymes et autres agents biologiques tels que les moisissures et les microbes.

Le séchage doit être rapide et dans un endroit bien aéré et à l'abri de la lumière [17]

Il existe également d'autres procédés de séchage : les procédés mécaniques (presse, décantation ou centrifugation), les procédés physico-chimiques (adsorption, absorption, réfrigération et séchage par évaporation) [18]

b)-Conservation :

Il existe diverses méthodes de conservation, les plus courantes et les plus simples étant le séchage à l'air ou au four [16]

Les plantes séchées sont coupées grossièrement et disposées dans des bocaux de verre ou dans des sacs en papier, à l'abri de l'air et de la lumière. Les boîtes en fer sont naturellement proscrites. [17]

Les plantes séchées peuvent être conservées pendant une année dans de bonnes conditions. Au-delà de cette période, leur pouvoir diminue sensiblement et l'action thérapeutique disparaît. C'est pourquoi il faudra renouveler le stock de plantes chaque année. [17]

Il existe également d'autres méthodes pour la conservation des propriétés médicinales des plantes telles que l'aspiration de l'humidité des plantes par un déshumidificateur ou la congélation dans des sacs en plastique. [16]

I-5-Méthodes d'extraction des plantes médicinales :

L'extraction est la séparation des parties actives des tissus végétaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs [19]. On a deux types :

➤ Méthodes d'extraction traditionnelles :

A- L'infusion :

L'infusion est la forme de préparation la plus simple ; on l'applique aux organes

déliés de la plante : fleurs, feuilles aromatiques, sommités. Cette forme permet d'assurer une diffusion optimale des substances volatiles : essences, résines, huiles essentielles [20]

B-Décoction :

Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus ou moins long, deux ou trois minutes pour les feuilles, les tiges et les fruits ; cinq minutes ou plus pour les écorces et les racines. [21]

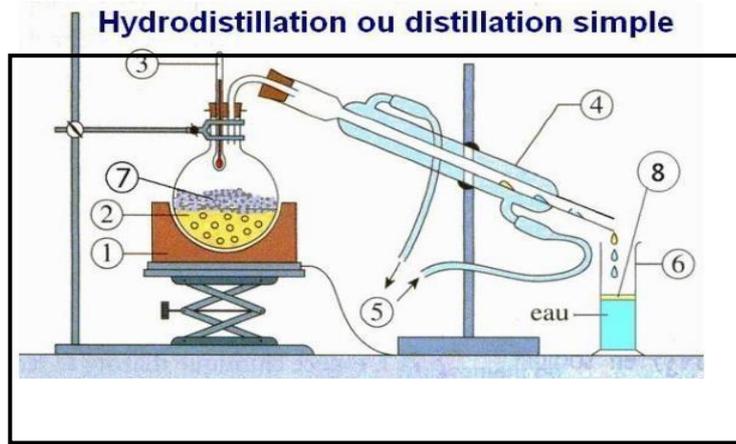
C-Macération :

Les macérations concernent généralement les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur. Elles peuvent être définies comme des infusions froides de longue durée (de plusieurs jours). Cette préparation s'obtient en mettant les plantes, en contact, à froid, avec un liquide quelconque. [20]

D-Distillation :

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles.

Développée par Jabir Ibn Hayyan (Geber 721-815) qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisée par Al Kindi (Alchindius 805-873) et Ibn Sina (Avicenne 980-1037) pour la préparation des parfums. [19]



1-Chauffe ballon; 2- Ballon; 3-Thermomètre; 4-Réfrigérant; 5-Entrée et sortie d'eau; 6-Erlenmeyer; 7- Matière à extraire l'essence; 8- couche d'HE.

Figure 01: schéma du principe de la technique d'hydrodistillation. [22]

➤ **Méthodes d'extraction modernes :**

A-Extraction par fluides supercritiques :

Est un procédé d'extraction en utilisant un fluide supercritique comme solvant d'extraction le dioxyde de carbone (CO_2) est le plus utilisée. L'inconvénient du CO_2 est qu'il a une faible polarité qui le rend idéal pour les lipides, les graisses et les substances non polaires , et elle possède un avantage environnemental car il ne laisse aucun résidu de solvant dans le produit. [19]

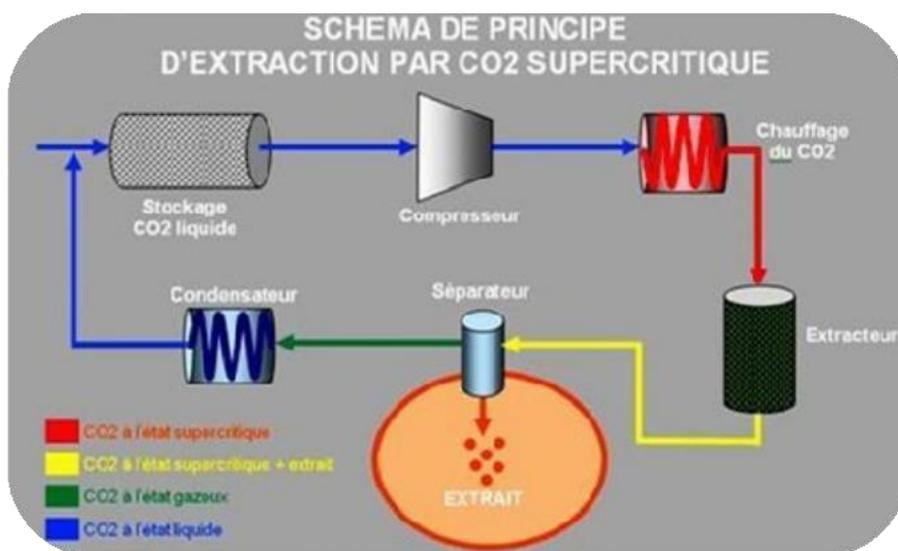


Figure 02 : Le principe de la technique d'extraction par CO_2 supercritique [23]

B-Extraction par eau surchauffée ou subcritique :

L'eau surchauffée est attribuée à l'eau liquide sous pression à température comprise entre 100°C et 374°C qui est sa température critique, avantages de cette technique sont: faible coût, non toxique, un meilleur rendement, une bonne qualité des produits propres.[19]

C-Extraction assistée par micro-ondes :

Cette technique s'applique à toute extraction par un liquide tel que l'extraction liquide-liquide et surtout l'extraction solide-liquide. Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques de longueur d'onde différente, avantages de cette technique augmente la pureté de l'extrait, réduit la dégradation par la chaleur, rapide, application de très faible énergie et usage de très faibles quantités de solvant. [19]

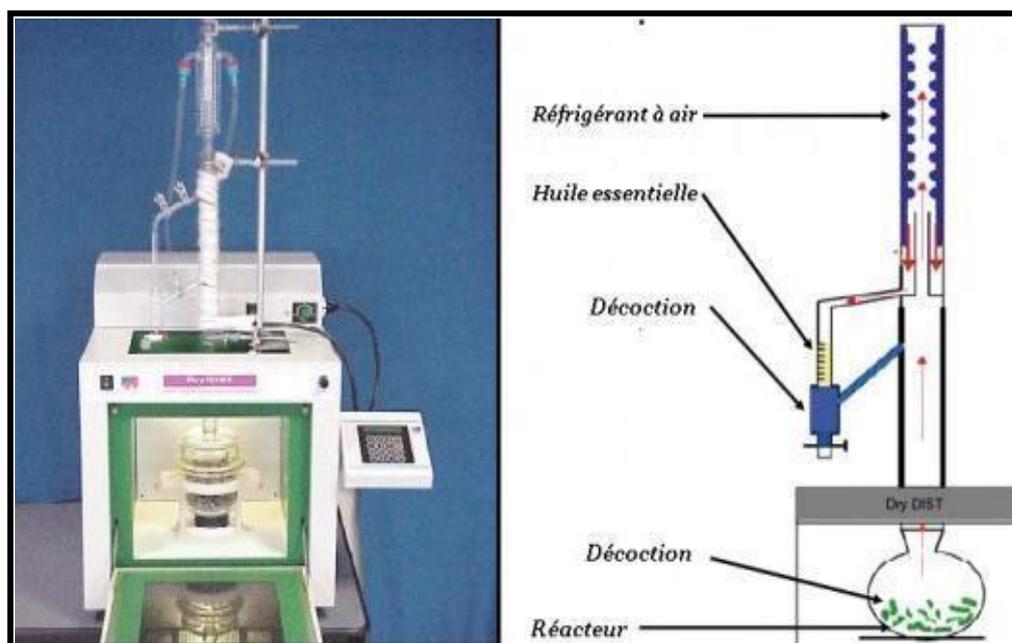


Figure 03 : extraction assistée par micro-ondes. [24]

D-Extraction par ultrasons ou sonication :

Elle représente une adaptation de l'hydrodistillation ou de l'extraction par solvant organique. En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et dans le même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Cette technique peut être utilisée pour l'extraction des huiles essentielles, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique. [19]

II - Armoise blanche (*Artemisia herba alba*)

II -1-Généralités :

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées: c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces. [25]

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides cafféoylquinic, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes. [26]

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique .[27]

II-2-Origine:

L'Artémisia est le nom de guerre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis, la diane des romains, patronne des vierges à cause des bienfaits de cette herbe. Herba alba signifie herbe blanche.

Plusieurs noms sont attribués à l'armoise blanche tels le thym des steppes,absinthe du désert. En Afrique du nord et en moyen orient, on l'appelle communément Shih"ou "Chih".[28]

II-3-Répartition géographique:

- **Local:** les Hauts plateaux et le Sahara septentrional.
- **Régional:** Afrique du Nord.
- **Mondial :** Espagne, Afrique du Nord et Asie occidentale.

L'artémisia herba alba est une plante spontanée très répandue en Afrique du nord et au moyen orient, elle affectionne les climats secs et chauds, et existe sous forme de peuplements importants dans les zones désertiques . [29]

C'est une plante steppique des régions irano-touraniennes, prédominante dans les steppes d'Espagne ainsi que dans le désert de Sinai . [30]

Au Maroc, l'artémisia herba alba se rencontre à l'état spontané, il n'est pas rare de

trouver des zones de plusieurs dizaines de kilomètres de rayon où seule l'armoise blanche règne dans un paysage quasi-désertique. Le Maroc attache beaucoup d'importance à cette plante qui constitue un excellent moyen naturel de lutte contre l'érosion et la désertification. [31]

En Algérie, l'artémisia herba alba, connue sous le nom de « chih » ou encore appelé semen-contra de barbarie, couvre près de six millions d'hectares dans les steppes, elle se présente sous forme de buissons blancs, laineux et espacés .

Le genre *Artemisia* (les armoises) regroupe des herbacées, des arbrisseaux et des arbustes, généralement aromatiques, densément tomenteux, pubescents ou glabres, de la famille des Astéracées. [32]



Figure 04 : La plante l'Armoise blanche dans son milieu naturel à la fin de la saison de floraison

II-4- Description botanique:

L'armoise blanche est une plante vivace qui forme des buissons de 30 à 50 cm, blanche et laineuse, à tiges nombreuses, tomenteuses.

Les feuilles sont courtes, généralement pubescentes argentées avec des capitules sessiles de 2-5 fleurs. Ces derniers sont hermaphrodites alors que le fruit est akène.

Le réceptacle est nu et la corolle est insérée très obliquement sur l'ovaire.[33]

A. Partie souterraine :

L'armoise blanche présente une racine principale, épaisse et ligneuse, bien distincte des racines secondaires, qui s'enfoncent dans le sol comme un pivot.

Le système racinaire a une extension peu profonde avec un grand nombre de ramifications latérales particulièrement abondantes entre 2 à 5 cm de profondeur mettant en relation cette forme de racine avec l'existence d'un court calcaire superficiel.

Quand l'armoise se développe dans une région plus humide, ses racines pénètrent profondément jusqu'à 40 à 50 cm et ne se ramifient qu'à cette profondeur. [34]

La biomasse racinaire diminue très vite avec la profondeur et très peu de racines sont retrouvées à partir de 50 cm. [35]

B. Partie aérienne :

Elle est représentée par la partie ligneuse, la tige, les feuilles et les fleurs

1- La tige :

L'armoise présente une tige principale très épaisse, rougeâtre, qui se ramifie et se prolonge par de nombreuses tiges de plus en plus fines. Chaque tige se distingue par une taille allant de 30 à 50 cm. [36]

2- Les feuilles et les rameaux:

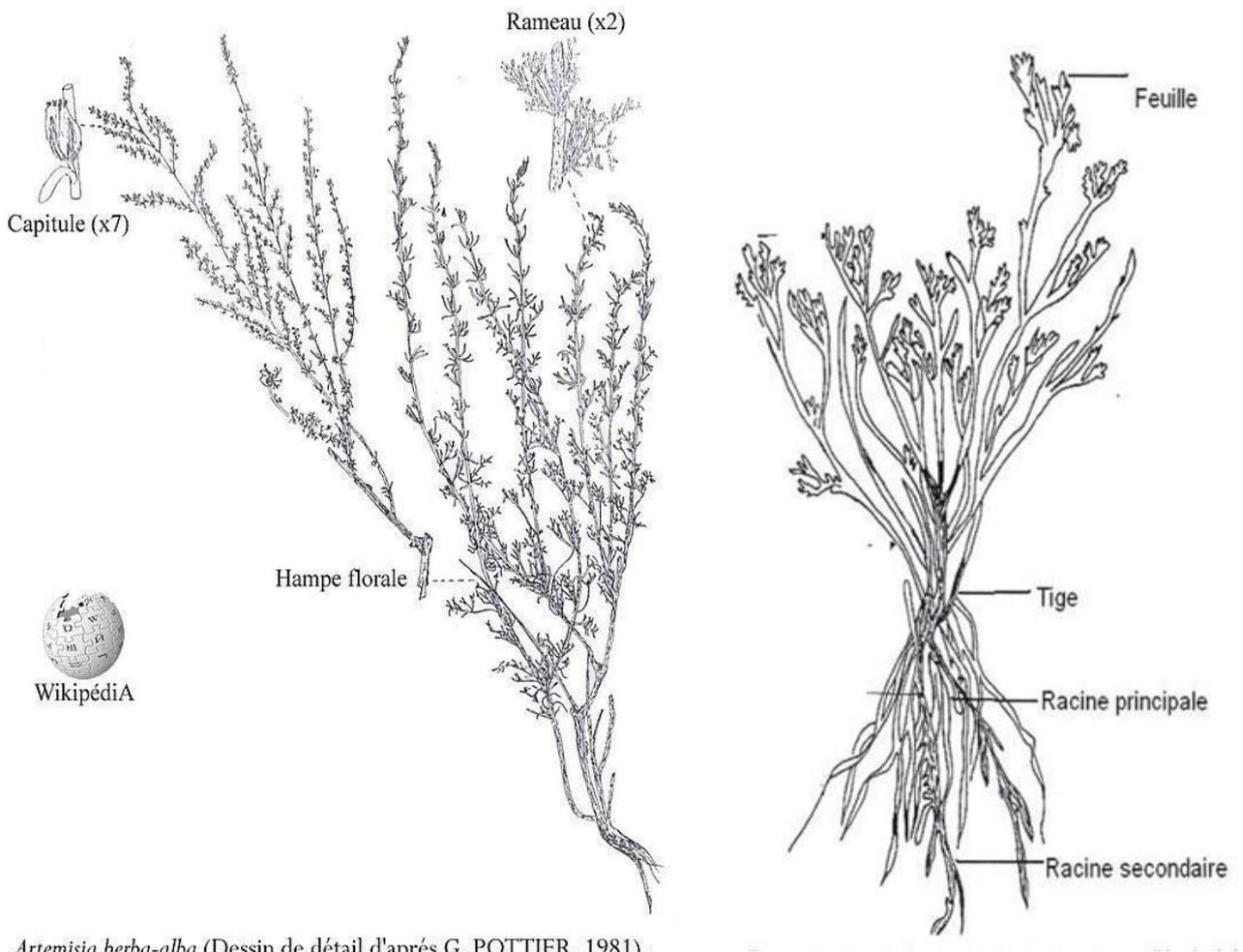
Les feuilles sont courtes, blanches laineuses, et argentées. Elles sont très petites et entières, ce qui réduit considérablement la surface transpirante et permet ainsi à la plante de résister à la sécheresse.[34]

3- La fleur:

La floraison s'effectue en automne à partir du mois de septembre. La fleur est formée d'inflorescences en capitules.

Ces derniers sont très petits, étroits (12 à 5 mm) ovoïdes à involucre scarieux de contenant que 3 à 8 fleurs, tous hermaphrodites.

Ces capitules pauciflores, en général homogames sont insérés directement sur l'axe et sans aucun support. [37]



Artemisia herba-alba (Dessin de détail d'après G. POTTIER, 1981) .

Figure 05: Dessin de détail d'après G.POTTER, 1981 d'*Artémisia herba alba*

II--4- Classification de *l'artemisia herba alba*:

Le genre *Artémisia* appartient à la famille des composés, il comprend environ 400 espèces regroupées en quatre sections : *Abrotanum*, *Absinthium*, *Seriphidium* et *dracunculus*.

La classification de *l'artémisia herba alba* la plus utilisée dans la systématique du genre *Artémisia* est celle donnée par Quenzel et Santa et que nous pouvons résumer comme suit dans le tableau suivant: [38]

Tableau 01: classification de *l'armoise blanche*

Règne	Végétal
EMBRANCHEMENT	Phanérogames
SOUS EMBRANCHEMENT	Angiospermes
CLASSE	Dicotylédones gamopétales
SOUS CLASSE	Gamopétal épiqueyne isosternes
ORDRE	Asterales
FAMILLE	Synanthérées ou composées
SOUS FAMILLE	Tubuliflores
TRIBU	Anthemidées
GENRE	<i>Artémisia</i>
ESPECE	<i>Artémisia herba alba</i>

II--5- Biologie:

L'armoise herbe blanche est une plante ligneuse basse et toujours verte. Ses caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides.

Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permet de réduire la surface transpirante et d'éviter ainsi les pertes d'eau. [39]

Grâce à son système racinaire très dense à la surface, l'armoise herbe blanche est capable de valoriser toute humidité superficielle occasionnée par des petites pluies. [40]

Cette espèce est également capable d'exploiter l'humidité du sol jusqu'à 50 cm de profondeur et peut profiter des fractures de la croûte, pour atteindre les poches d'humidité, notamment dans les sols à encroûtement calcaire. [41]

EVENARI et coll. (1976), ont rapporté que chez les plantes âgées d'*Artemisia herba-alba*, la tige principale se divise en « branches » physiologiquement indépendantes

les unes des autres et susceptibles de mourir sans entraîner la mort de la plante entière. [42]

La floraison de cette espèce débute le plus souvent en juin mais les fleurs se développent essentiellement à la fin de l'été. Lors des années pluvieuses et dans les sols qui lui conviennent, l'armoise herbe blanche présente une forte production de graines et un pouvoir de régénération élevé. [43]

II-6-Ecologie:

L'armoise blanche existe dans les bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien. Elle semble indifférente aux altitudes et peut vivre dans les régions d'hiver chaud à frais.

Dans le sud, cette plante pousse sur les sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur les sols sableux. Elle résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés. [43]

Elle se développe dans les steppes argileuses où les précipitations sont de l'ordre de 200mm/an. Son développement est lié à la nature du sol. En effet, il faut qu'il soit peu perméable, tassé et colmaté. [44]

Accompagnée de l'alfa « *stippa tenassissima* », elle couvre souvent de très grandes superficies dans les hauts plateaux. Sa présence est plus fréquente en bordure des oueds et dans les dayas (dépression de la steppe à sol imperméable qui sont des secteurs plus ou moins humides).[45]

II-7- -Métabolites des plantes:

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. Les métabolites sont les molécules issues du métabolisme des végétaux ou d'animaux.

On distingue deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires.[46]

II-7-1- Les métabolites primaires:

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme.[47]

- ✓ Les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois

cellulaire (cellulose).

- ✓ Les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.
- ✓ Les amino-acides représentent une source primaire de construction des protéines.

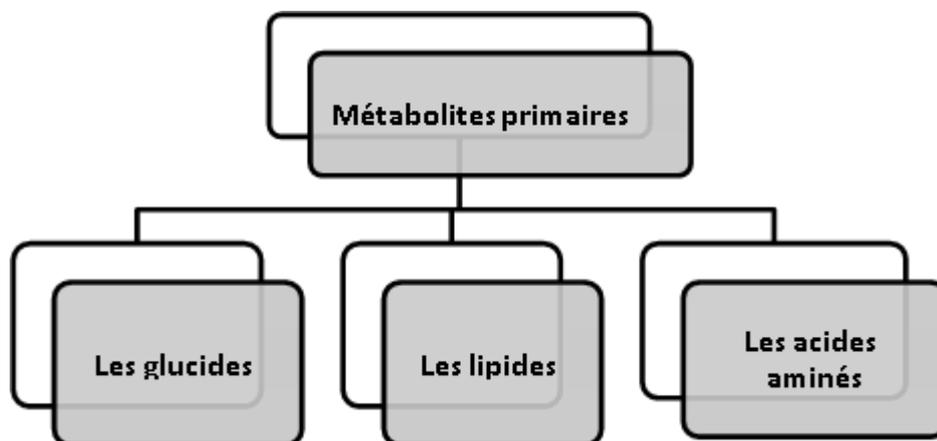


Figure 06: Schéma représente les métabolites primaires

II-7-2-Les métabolites secondaires:

Les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques gastro-intestinales, antioxydants [48]

Ils ne sont pas vitaux pour l'organisme mais jouent nécessairement un rôle important de par la machinerie enzymatique complexe nécessaire à leur production. Ils ont des rôles écologiques (allomone, phéromone...). Ces molécules furent sélectionnées au cours de l'évolution pour l'interaction qu'elles ont avec un récepteur d'un autre organisme. elle représente grande source potentielle d'agents thérapeutiques. [49]

II-7-2-1-Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont fort répandus dans le règne végétal ; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arome, ou l'astringence des plantes, dépendent de la concentration et des transformations des phénols. [50]

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux. Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate. [51]

L'élément structural de base est un noyau benzénique auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...). [52]

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce leurs actions antibactériennes et anti-ongiques, participent à la pigmentation des fleurs, des cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant. d'autre part légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc...). Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence. [53]

Tableau 02 : Activités biologiques des composés polyphénoliques. [54]

POLYPHENOLS	ACTIVITES
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydants
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales ,Anticarcinogènes, Anti-inflammatoires Hypotenseurs Diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydante, Antitumorales ,Antifongiques ,Anti-inflammatoires
Tanins Galliques Et Catéchiques	Antioxydantes

II-7-2-2-Les tanins:

Les tanins sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement tous les végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles et les fruits(raisin, datte, café, cacao...).[55]

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a

pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto- oxydation des lipides. les tanins sont divisés en deux groupes : [56]

1- Les tanins condensés, (flavan-3-ols) formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères)

2- Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose.

Les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou proanthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine. Ces tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique. [57]

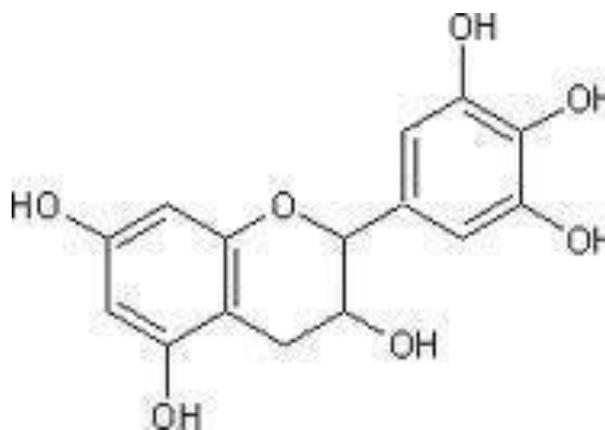


Figure 07: structure des tanins

II-7-2-3- Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, présentent le même élément structural de base (sauf exceptions : chalcones, aurones, isoflavones), à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-1-benzopyrane) (**Figure 08**). [58]

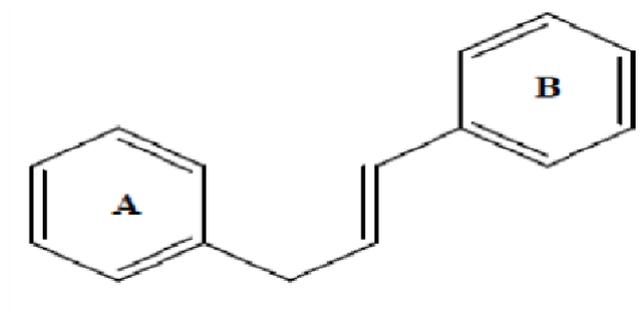


Figure 08 : Structure de base des flavonoïdes

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antioxydants et, anti-cancéreuses. [59]

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques : flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines. [60]

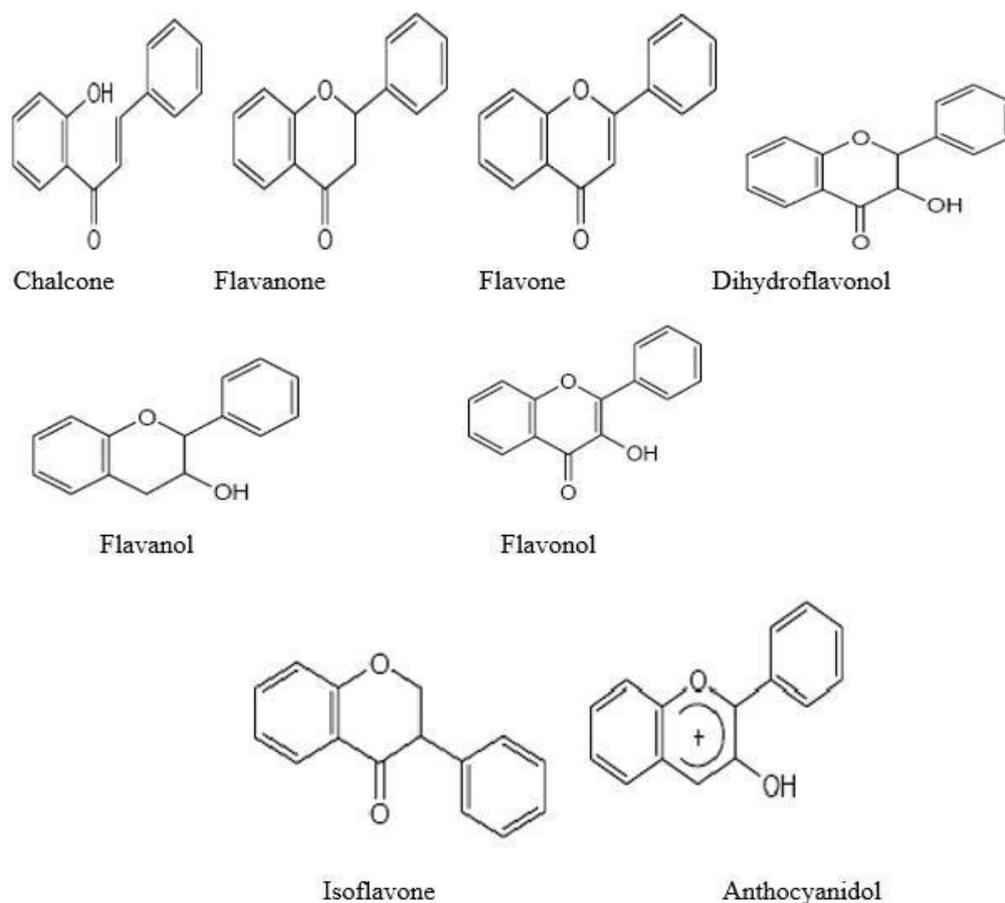


Figure 09: Structure de quelques classes de flavonoïdes. [61]

II-7-2-3-Les saponines :

Les saponosides ou saponines (du mot latin *sapo* est signifie savon), ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon. [62]

Ce sont des glycosides terpéniques, ayant un poids moléculaires élevé. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile. [63]

On trouve les saponines dans le soja, l'ail, les haricots blancs, les épinards, les tomates, les pommes de terre, les graines d'avoine, la luzerne. [64]

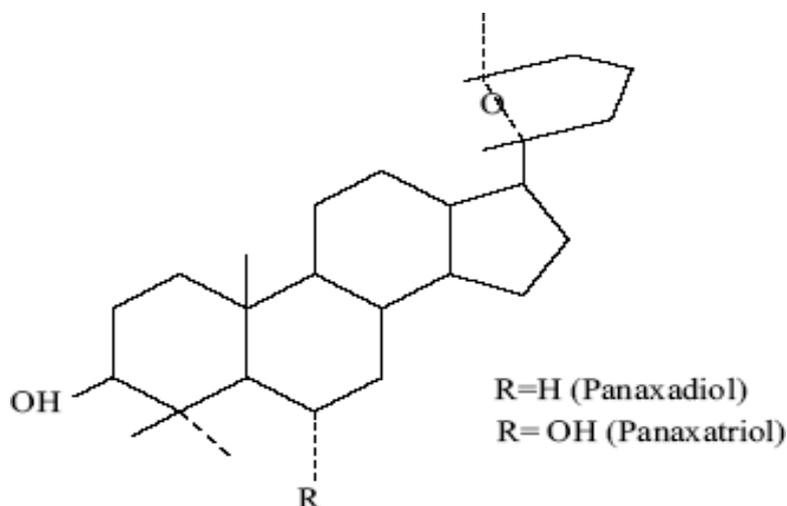


Figure 10 : Structure des saponines. [65]

II-7-2-3-La chlorophylle :

La chlorophylle est le principal pigment photosynthétique. Elle est présente chez presque tous les organismes photosynthétiques et est à l'origine de leur couleur verte car elle absorbe fortement la lumière visible dans les longueurs d'onde correspondant au bleu et au rouge mais laisse filtrer une grande partie de la lumière verte. On dénombre jusqu'à plusieurs centaines de millions de molécules de chlorophylle dans un seul chloroplaste. Ses structures remarquables caractérisent cette molécule :

- ✓ un noyau tétrapyrrolique ou chlorine, contenant un atome de magnésium en son centre
- ✓ une chaîne terpénique ou phytol, constituée de vingt atomes de carbone.

Il existe différentes formes de chlorophylles, dont les seules présentes chez les végétaux supérieurs sont la chlorophylle (a) et la chlorophylle (b). Les autres formes (chlorophylle c et d) présentes chez certaines algues ou bactéries et sortent du cadre de notre étude. Comme le montrent (la figure 11), la structure des formes a et b de la chlorophylle est quasi identique, à l'exception d'une fonction aldéhyde située sur la chlorine. [66]

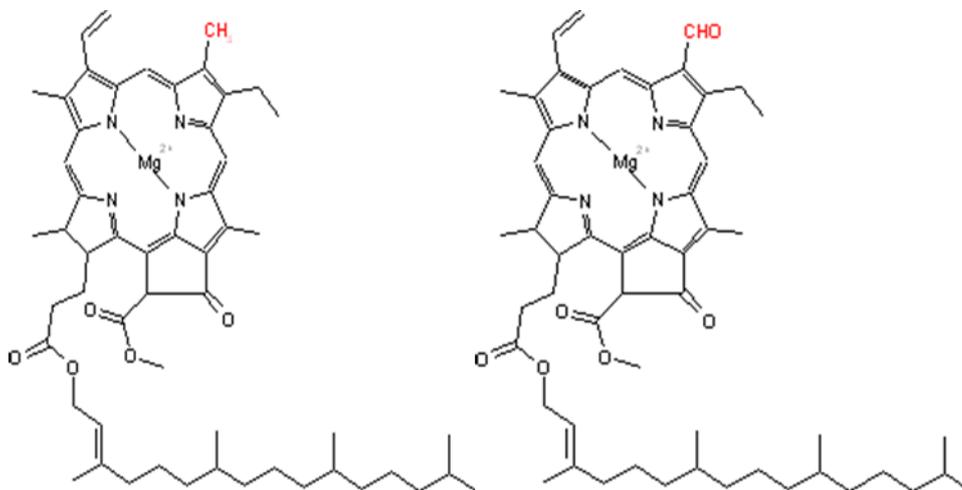


Figure 11: structure des chlorophylles a (à gauche) et b (à droite)

II-7-2-4-Les Huiles essentielles :

Depuis les temps les plus reculés, le monde végétal offre les éléments nécessaires à la survie de l'espèce humaine. En effet, les plantes demeurent la principale source de principes actifs dont le rôle et l'utilisation sont très variés.

Les huiles essentielles, isolées à partir de plantes, constituent l'un des principes actifs des plus importants en raison de leurs multiples et diverses applications. [67]

Les huiles essentielles ou essences végétales sont des produits huileux, volatils, odorants et incolores ou légèrement teintés, obtenus par distillation à la vapeur d'eau, par expression, par incision ou par enfleurage du matériel végétal. [68]

II-7-2-4-1-Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles:

Le rôle physiologique des huiles pour le rôle végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et propriétés biologiques. Les huiles essentielles sont employées pour : [69]

- ✓ Leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums.
- ✓ Des propriétés antiseptiques pour les poumons et les reins ou comme bain de bouche.

- ✓ Dépuratives, cicatrisantes, analgésiques et anti-inflammatoires.
- ✓ Des activités antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires et antihelminthiques et aussi des propriétés antioxydants.
- ✓ Un effet anesthésiant pour soigner les douleurs rhumatismales.
- ✓ Action stimulante sur l'utérus, effet abortif en cas d'intoxication.
- ✓ Action sur le système nerveux central, en exerçant des effets sédatif, relaxant et déstressant.
- ✓ Effet anticancéreux, en stimulant l'apoptose des cellules tumorales

II-7-2-4-2-Huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba*:

L'HE d'*Artemisia herba alba* renferme une valeur thérapeutique antifongique et anti-inflammatoire, elle est utilisée pour traiter les troubles infectieux et comme antiseptique en médecine traditionnelle. [70]

II-8-Intérêt de la plante :

II-8-1-Industriel :

Les extraits de ses huiles essentielles sont utilisés comme aromes, son intérêt économique c'est un pâturage permanent de certaines zones désertiques, son odeur caractéristique la rend très prisée par le cheptel ovin. [71]

II-8-2-Médicinale :

Les racines d'Armoise blanche ont été employées avec succès en Allemagne contre l'épilepsie. [72]

L'armoise blanche est utilisée comme une plante amère, aromatique, digestive et anticonvulsive, mais son action est un peu plus faible que celle des autres armoises.

La médecine populaire l'utilise contre les troubles nerveux, les insomnies et dans les soins des maladies féminines. Elle est considérée Comme une plante antidiabétique adjuvant dans les soins du diabète. [73]

II-8-3-Culinaire :

A la maison l'armoise blanche est utilisée comme un remède pour calmer les douleurs abdominales, le foie sous forme de tisane.

Elle est vermifuge (élimine le vers : oxyures et ascaris). Elle facilite la digestion, elle est aussi utilisée comme remède contre les troubles intestinaux, la rougeole et les faiblesses musculaires. [74]

II-9-Toxicité de la plante:

L'armoise blanche est peu broutée au printemps, elle est comme légèrement toxique à cette époque.

L'armoise à forte dose est abortive, neurotoxique et hémorragique la tuyone constitue la substance toxique et bioactive dans l'armoise et sa forme la plus toxique est l'alpha-tuyone. Elle a des effets convulsivantes. [71]

Elle est Interdite aux femmes enceintes car elle est toxique à dose élevée on doit respecter les doses. Son pollen provoque des diarrhées. [72]

Chapitre II

Généralités sur les alcaloïdes

II -1 -Introduction :

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires. [75]

- ✓ **Les métabolites primaires :** Les métabolites primaires : sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. [76]
- ✓ **Les métabolites secondaires :** ont une répartition limitée dans les différentes espèces de végétaux. Ils ont des fonctions très importantes pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent, comme signaux chimiques, pour défendre leur producteur contre les herbivores et les pathogènes. Comme ils participent à des réponses allopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance). [77]

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes :

Les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité en biologie humaine [78]

Les alcaloïdes font partie des métabolites secondaires des plantes. Pour cette étude nous intéresserons uniquement aux alcaloïdes. Les alcaloïdes sont une source de molécules bioactives ayant plusieurs intérêts biologiques. [79]

II-2- Définition des Alcaloïdes :

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meissner au début de XIX^e siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis (de l'arabe al-qali, la soude et du grec eidos, l'aspect). Plus de 15000 alcaloïdes ont été isolés [80] depuis la découverte de la morphine [81]

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote. [82] Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux.[83]

II-3- Structure des alcaloïdes:

Vouloir proposer une classification pour les alcaloïdes demeure une tâche ardue, en raison du grand nombre de composés connus et surtout à cause de la diversité structurale. Une des classifications possibles concerne le nombre de cycles contenant l'atome d'azote à mentionné dans **le tableau I.** [79]

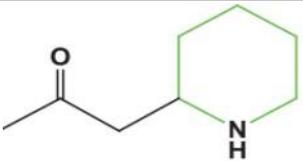
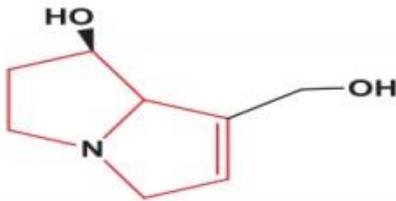
Structure	Exemple
1 seul cycle contenant l'atome d'azote.	 <p>Isopelletierine</p>
2 cycles contenant l'atome d'azote	 <p>Rétronécine</p>

Tableau 03: Structure des alcaloïdes. [79]

II-4 -Sources biologiques des alcaloïdes:

Les alcaloïdes sont retrouvés dans plusieurs organismes vivants. Bien que la majorité proviennent des plantes (8,7 % des phanérogames, dicotylédones), on peut retrouver les alcaloïdes aussi dans :[84]

- des champignons (ex. ergine, de l'ergot du seigle)
- des mousses (ex. lycopodine, de *Lycopodium complanatum*)
- des bactéries (ex. pyocyanine, de *Pseudomonas aeruginosa*)
- et des animaux supérieurs (ex. adrénaline, castoramine du musc).

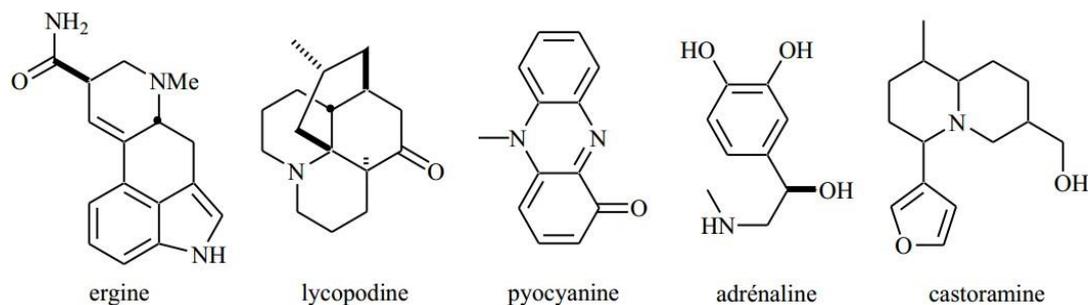


Figure 12: Alcaloïdes de diverses provenances.[84]

II-5- Classification des alcaloïdes:

a-Selon l'origine biosynthétique:

On distingue trois types d'alcaloïdes

➤ Les alcaloïdes vrais

Sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde. [79] (Nicotine du tabac, figure 2(a)).[86]

➤ les proto-alcaloïdes

Sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés à partir d'acides aminés. Ils sont souvent appelés « amines biologiques »[85] (Mescaline de peyotl, figure 02 (b)).[86]

➤ Les pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés d'acides aminés. Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate. [85]. (Coniine de la ciguë, figure 02 (c)).[86]

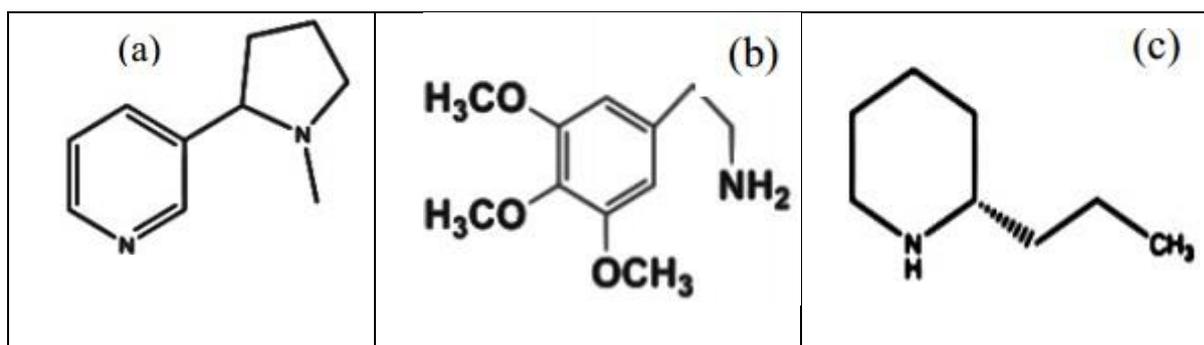
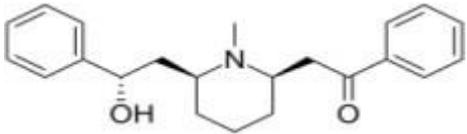


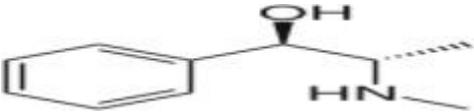
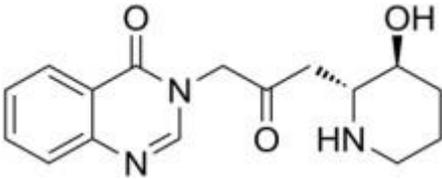
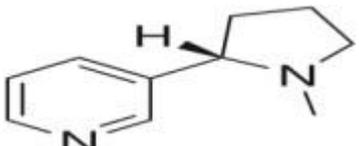
Figure 13: Structure des différents types d'alcaloïdes [86]

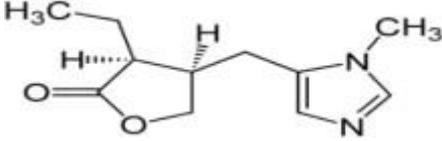
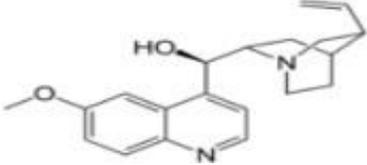
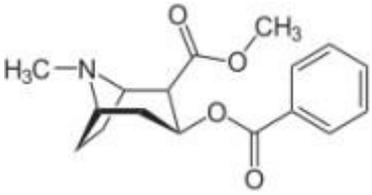
Nicotine (a) ; Mescaline (b) ; Coniine (c).

b- Selon leur composition chimique et structure moléculaire:

Tableau 04 : Classification des alcaloïdes.[87]

Les dérivés des alcaloïdes	Exemple	Les propriétés
Alcaloïdes dérivés de la lysine	Composés piperidinique ex : la lobéline 	<ul style="list-style-type: none"> - L'extrait brut de la plante est largement employé dans le traitement de l'asthme et de la bronchite. - Très toxique mais le sel de sulfate correspondant est utilisé en médecine comme agent stimulant de rythme cardiaque. - utilisée pour provoquer la contraction de l'utérus au cours de l'accouchement.

<p>Alcaloïdes dérivés de la tyrosine et de la phénylalanine</p>	<p>Composés monocyclique ex : l'éphédrine</p> 	<p>-Médicament analgésique et anti-allergique.</p> <p>- Une activité vasodilatatrice Propriétés hypnotiques et analgésique.</p> <p>-A un effet calmant sur des zones du système nerveux central.</p> <p>-Inhibe la sensation de douleur.</p> <p>-Effet analgésique associé à un effet euphorisant.</p>
<p>Alcaloïdes dérivés de l'acide anthranilique</p>	<p>La fébrifugine</p> 	<p>-Propriétés antipyrétiques et antiparasitaires.</p> <p>-Une activité antitumorale sur différents modèles de tumeurs humaines du poumon du colon et des ovaires.</p>
<p>Alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique</p>	<p>La nicotine</p> 	<p>-Effet contre les attaques des herbivores et des insectes Stimulant respiratoire.</p> <p>-Agent aidant le processus de sevrage tabagique</p>

Alcaloïdes dérivés de l'histidine	<p style="text-align: center;">La pilocarpine</p> 	<p>- Utilisée en ophtalmologie dans le traitement du glaucome.</p>
Alcaloïdes dérivés du tryptophane	<p style="text-align: center;">La quinine</p> 	<p>-Utilisée dans les traitements de la crampe nocturne de la jambe. - Tue les mérozoïtes de l'agent vecteur de la malaria.</p>
Alcaloïdes dérivés de l'ornithine	<p style="text-align: center;">La cocaïne</p> 	<p>-Utilisée dans le domaine de l'odontologie. - Elle étouffe les symptômes de fatigue et d'épuisement.</p>

II-6-Propriétés physico-chimiques:

- ◆ La masse moléculaire des alcaloïdes est généralement faible et dépasse rarement 1000.
- ◆ La plupart sont des solides cristallisés. Quelques-uns se présentent sous forme de liquides volatils à la température ordinaire (nicotine, coniine, mescaline), mais leurs sels sont cristallisés.
- ◆ L'amertume est un caractère quasi constant qu'il n'est cependant pas recommandé de vérifier en raison de la toxicité des produits.
- ◆ Les alcaloïdes sont, en général, insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants dits « organiques » (alcools, acétone, chloroforme, oxyde d'éthyle, etc.) tandis que leurs sels ont des caractères de solubilité inverses.
- ◆ L'existence d'atomes de carbone asymétriques dans leur structure confère à la plupart des alcaloïdes un pouvoir rotatoire, parfois élevé et caractéristique, par déviation du plan de la lumière polarisée.[88]
- ◆ La majorité des alcaloïdes sont dérivés à partir des acides aminés tels que: ornithine, lysine, phénylalanine, tyrosine et tryptophane. [89]

II-7-Rôle des alcaloïdes dans la plante:

Au niveau de la plante, les alcaloïdes jouent un rôle essentiel dans la protection du végétal contre les animaux comme agents phytophages; ils ont également la plus importante des rôles produit d'excrétion du métabolisme azoté, Substance de réserve, Régulateurs de croissance. La nicotine ne permet pas la croissance des larves du tabac. Les alcaloïdes tout d'abord, ont des effets bénéfiques sur la plante synthétisante dont ils régulent la croissance et le métabolisme interne végétaux, ils désintoxiquent et transforment les substances nocives au végétal, ils protègent la plante contre les rayons UV, comme ils ont des effets contre les herbivores.[90]

II-8-Biosynthèse des alcaloïdes:

L'origine des alcaloïdes vrais remonte aux acides aminés entre autres: l'ornithine, la lysine, la phénylalanine, la tyrosine, la tryptophane, l'histidine et l'acide anthranilique.

La formation du système hétérocyclique passe généralement par un processus inter ou intramoléculaire simple: La formation de l'alcaloïde peut nécessiter l'intervention d'une seule molécule d'acide aminé, c'est le cas de l'hygrine ou de la cathine, de deux molécules du même acide aminé comme pour les quinolizidines et les benzyloquinoléines, plus rarement de deux acides aminés différents (tubulosine) ou de plusieurs molécules du même acide aminé comme dans le cas de la spartéine. Quand la molécule comporte des carbones supplémentaires, ils sont apportés par des éléments largement impliqués dans d'autres métabolismes : acétate (tropanes), diméthylallylpyrophosphate (ergolines, furoquinoléines) ou plus spécifiques à un groupe particulier de végétaux comme le sécologanoside (alcaloïde indolo-monoterpéniques). Les oxydations allyliques, les couplages oxydatifs, l'oxydation des noyaux aromatiques, les estérifications, les étherifications, etc. justifient l'existence des nombreuses variations structurales. Pour les alcaloïdes terpéniques, ils sont un peu particuliers et leurs précurseurs ont une origine strictement terpénique et l'amination de la molécule est tardive.[79]

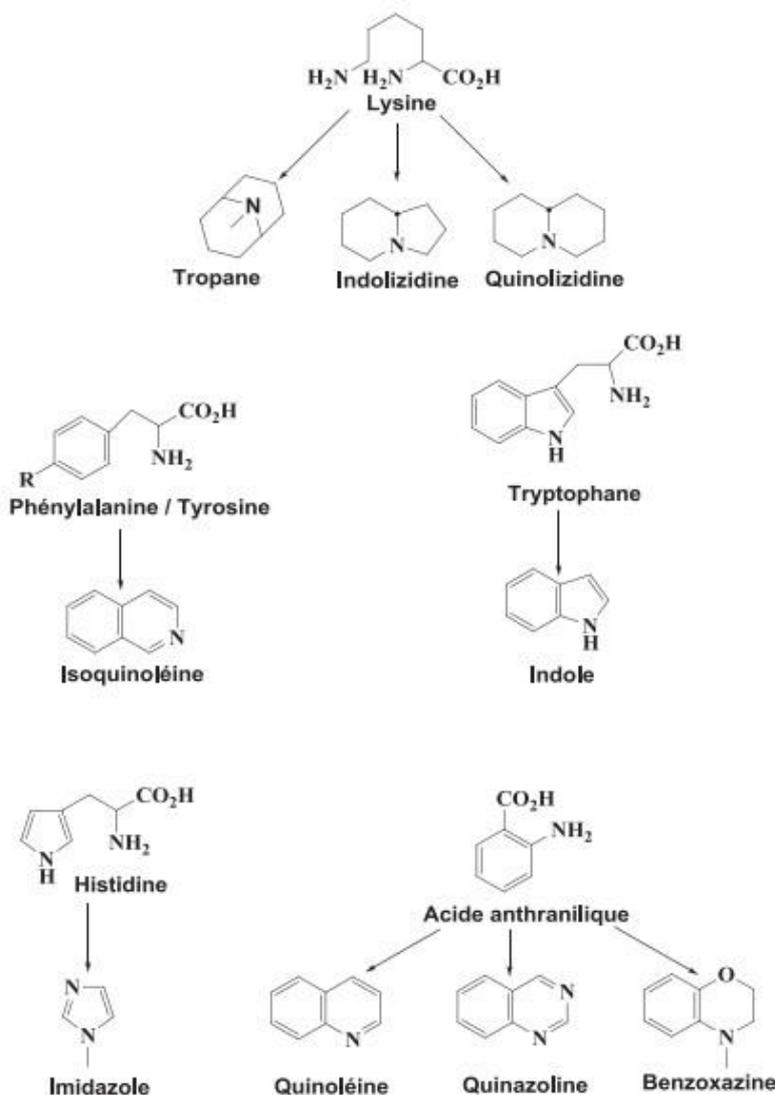


Figure 14: Origine biosynthétique des alcaloïdes [79]

II-9-Propriétés pharmacologiques et applications:

Actuellement, les alcaloïdes présentent de nombreuses applications en médecine moderne, en raison de leurs propriétés pharmacologiques. Certaines substances peuvent ainsi être analgésiques (morphine), antipaludiques (quinine), anticancéreuses (vinblastine, vincristine), tandis que d'autres se révèlent toxiques (strychnine, nicotine). Les alcaloïdes jouent aussi le rôle d'antibiotiques comme la clausenol et la squalamine. Compte tenu de cet éventail de propriétés, les plantes à alcaloïdes et les alcaloïdes occupent une place de choix dans les pharmacopées tant traditionnelles que modernes.[86]

II-10- Localisation des alcaloïdes:

Pour une plante donnée, la teneur en alcaloïdes peut être très inégale selon les organes, certains pouvant en être dépourvus. Les alcaloïdes sont retrouvés sous forme solubles, sels (citrates, malates, tartrates, méconates, isobutyrate, benzoates) ou sous forme complexée avec des tanins. Ils sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques : assises externes des écorces de tige et de racine, téguments des graines, etc. La basicité et les actions anti métabolites de la plupart de ces molécules imposent leur compartimentation : elles sont normalement stockées dans les vacuoles cellulaires, que ces dernières s'effectuent au niveau de sites précis (laticifères) ou non. Le plus souvent, la synthèse de ces alcaloïdes s'effectue au niveau de site précis (racine en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes) ; ils sont ensuite transportés dans leur site de stockage.[91]

II-11- Extraction des alcaloïdes:

Les propriétés basiques des alcaloïdes et les solubilités différentielles qu'ils présentent avec leurs sels sont mises à profit lors de leur extraction. Deux cas principaux se présentent :

- ◆ **Alcaloïdes volatils** entraînés par la vapeur d'eau : ils sont déplacés de leurs combinaisons naturelles par une base fixe (chaux, soude, magnésie), directement à partir de la plante, puis entraînés par la vapeur d'eau. Après condensation, ils se séparent de la partie aqueuse du distillat à laquelle ils ne sont pas miscibles. Sont obtenues de la sorte la nicotine du tabac ou la spartéine du genêt.[92]
- ◆ **Alcaloïdes fixes** : la plante est traitée par de l'eau ou un alcool (éthanol à 70 p. 100, méthanol) en présence d'acide qui entraîne les alcaloïdes sous forme de sels solubles. La solution extractive est séparée, éventuellement concentrée, et alcalinisée par de la soude ou de l'ammoniaque qui libère les alcaloïdes. Ceux-ci sont alors repris par un solvant organique non miscible à l'eau. Un second procédé pour déplacer les alcaloïdes consiste à ajouter un agent alcalin directement à la plante, et les alcaloïdes libérés sont récupérés en traitant le tout par un solvant organique.[92]

II-12- Détection des alcaloïdes:

Elle se fait sur un extrait total (macération dans l'alcool) ou un extrait enrichi. Le principe est d'obtenir une précipitation en milieu acide, en présence de réactifs appropriés. Ces derniers contiennent des métaux ou des métalloïdes qui se combinent avec les alcaloïdes.[91]

Les plus utilisés sont les suivants :

- Mayer : solution de tétraiodomercurate de potassium,
- Dragendorff : solution de tétraiodobismuthate de potassium,
- Bertrand : réactif silico-tungstique (oxydes de tungstène et silicium),
- solutions d'iodoplatinates alcalins.

Il faut noter que la spécificité de ces réactifs n'est pas absolue, en effet, des protéines, des α -pyrones, certaines coumarines et des hydroxy-flavones, des lignanes et autres composés peuvent donner des réactions faussement positives avec le réactif de Dragendorff. [91]

II-13- conclusion :

Du fait de leurs rôles physiologiques ou de leurs activités biologiques spécifiques, les molécules alcaloïdes restent des importants réactifs biologiques. Elles présentent un intérêt toujours actuel en thérapeutique. Si la recherche des principes actifs continue activement en ce qui concerne les plantes médicinales et/ou toxiques, les alcaloïdes connus sont des produits de base de la pharmacie. [93]

Chapitre III

Les activités antibactériennes

III-1- Introduction :

Il est connu que le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. Mais, la consommation à grande échelle de ces « médicaments » a entraîné la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouveaux substituts, surtout les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration dans les recherches médicales. [94]

III-2- Les infections bactériennes :

Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme. Elle peut être :

- ✓ locale, lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré ;
- ✓ générale, lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme ;
- ✓ focale : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine. [95]

III-3- Rappel sur les bactéries :

Une bactérie est un microbe formé d'une seule cellule, visible au microscope, appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal.

Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, une paroi parfois d'une capsule.

Certaines bactéries sont mobiles grâce à des cils vibratiles. Selon leur mode de nutrition et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont classées en aérobies et en anaérobies.

Les bactéries se reproduisent selon deux modes :

- ✓ la division simple ou scissiparité ;
- ✓ la sporulation, la spore représentant la forme de résistance et de dissémination du germe.

Pour croître, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physicochimiques favorables qui leur sont nécessaires et les aliments couvrant leurs besoins énergétiques élémentaires et spécifiques.

Sur le plan pratique, ces besoins sont satisfaits dans des milieux élaborés par l'homme en vue d'étudier les bactéries et sont appelés de ce fait, milieux de culture [96];[97];[98]

III-4- Exemple de classification des bactéries:

a-Bactéries en forme de sphère : les cocci

► Cocci Gram positif

Nous avons les genres *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Pneumococcus*, *Enterococcus*.

► Cocci Gram négatif

Nous avons le genre *Neisseria*.

b-Bactéries en forme de bâtonnet : les bacilles

► Bacilles Gram positif

Nous avons les genres *Listeria*, *Erysipelothria*, *Bacillus*, *Cynetobacter*, *Actynomyces*.

► Bacilles Gram négatif

Nous avons les genres *Enterobacter*, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Bordetella*, *Brucella*, *Francisella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Vibron*, *Campylobacter*, *Moraxella*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Benbrinis soumia*

► Bacilles acido-alcool résistants (BAAR)

Ici, nous retrouvons le bacille de la tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) et celui de la lèpre (*Mycobacterium leprae*).

c-Bactéries en forme de spirale : les spirochètes

Nous avons les genres *Treponema*, *Leptospira*, *Borrella*, *Spirillum*.

Flore bactérienne anaérobie

► Gram positif

Nous avons les genres *Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionobacterium*, *Bifidobacterium*.

► Gram négatif

Nous avons les genres *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*. [96];[99]

III-5- Les Antibiotiques :

III-5- 1- Définition :

Au sens large : Les antibiotiques sont des substances antimicrobiennes peu ou pas toxiques pour l'organisme, de sorte que l'on peut, au moins pour la plupart d'entre eux, les administrer par voie générale, condition nécessaire au traitement de la majorité des infections.

Au sens strict : Les antibiotiques sont des substances antibactériennes à activité sélective (toxique pour la bactérie et non toxique pour les cellules de l'hôte) et spécifique (site d'action bien défini, la cible) liée à un mécanisme d'action précis. [100];[101]

Ce sont :

- ✓ Des substances naturelles d'origines biologiques, élaborées à partir des microorganismes (champignons, bactéries) ;
- ✓ Des substances chimiques de synthèse ;
- ✓ Des dérivés semi-synthétiques.

III-5- 2- Choix d'un antibiotique :

Il est fonction des critères suivants :

- ❖ Sensibilité du germe : antibiogramme permettant de choisir l'antibiotique le plus actif
- ❖ Localisation de l'infection : l'antibiotique doit parvenir à forte concentration au lieu de l'infection (bien connaître la cinétique du médicament) ;
- ❖ Mode d'administration : il dépend non seulement de l'état du malade mais aussi de la présentation du médicament (forme orale ou injectable) et des possibilités d'administration chez le malade (vomissements ou coma) ;
- ❖ Contre-indications du produit : la toxicité propre du produit et l'état du malade (vieillard, nouveau-né, femme enceinte, pathologies associées) qu'il pénètre. [102]

III-5- 3- Action de l'antibiotique sur une bactérie :

Pour qu'un antibiotique soit actif, il faut :

- ☞ Qu'il pénètre

- ☞ Qu'il ne soit ni modifié ni détruit
- ☞ Qu'il se fixe à une cible [103]

III-5- 4- Classification :

La classification des ATBs peut se faire selon les critères suivants :

a)-L'origine :

Les ATBs d'origine biologique : ils sont obtenus à partir d'autres micro-organismes.

Les ATBs d'origine synthétique : ils sont obtenus par synthèse pure ou en association à des produits de synthèse ou à des produits biologiquement obtenus (semi synthétique).[104]

b)-Mode d'action :

Plusieurs mécanismes d'action, on cite la paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques. [105]

c)-Spectre d'activité :

Chaque ATB est caractérisé par un spectre qui correspond à l'éventail des germes qu'il peut toucher. On a ainsi des ATBs à spectre très large, large, moyen, ou étroit .[106]

d)-Structure chimique :

Très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a ensuite hémi synthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les ATBs en familles (béta – lactamines, aminosides , tétracyclines ..[107]

III-5- 5-Bactériostatique et bactéricide :

L'action des ATBs sur les germes peut prendre deux aspects: bactériostase et bactéricidie. En réalité ces deux aspects sont complémentaires et ne sont que des degrés différents d'une seule et unique espèce bactérienne. [108]

III-5- 6- Bactériostase :

C'est l'arrêt du développement des micro-organismes par inhibition partielle ou totale de leur croissance. Cette activité est estimée in vitro par la mesure de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI). L'inhibition cesse dès que l'ATB disparaît, et

la croissance peut alors reprendre [109]

III-5- 7- La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) :

C'est la concentration minimale d'ATB permettant d'inhiber la multiplication bactérienne après 18 à 24h de contact à 37° C.

La détermination de CMI s'effectue par la méthode de dilution

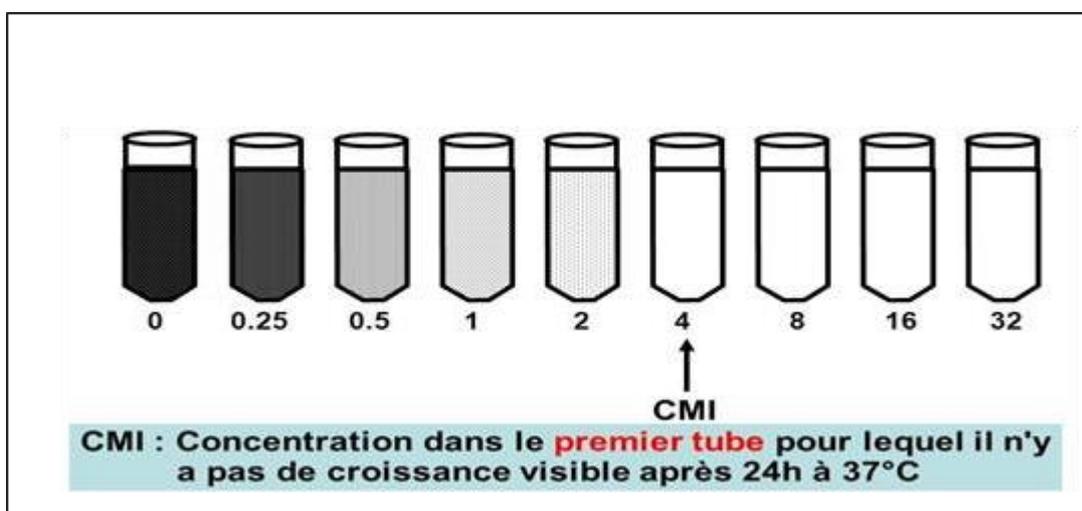


Figure 15: Détermination de la CMI sur milieu liquide [110]

III-5- 8- Antibiogramme :

La détermination de la CMI n'est utilisée en pratique que pour des cas particulier. En routine, on utilise une méthode plus approximative : un antibiogramme.

L'antibiogramme technique de laboratoire vise à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs ATBs, repose sur la compétition entre la croissance d'une souche bactérienne et la diffusion d'un ATB à partir d'un disque de papier pré imprégné de l'ATB, dans un milieu gélosé.

La mesure du diamètre permet de classer les bactéries en S (sensibles) R (résistantes) I (intermédiaires) vis-à-vis l'ATB, en comparant les résultats obtenus en CMI avec des concentrations critiques définies par la société savante de microbiologie[111].

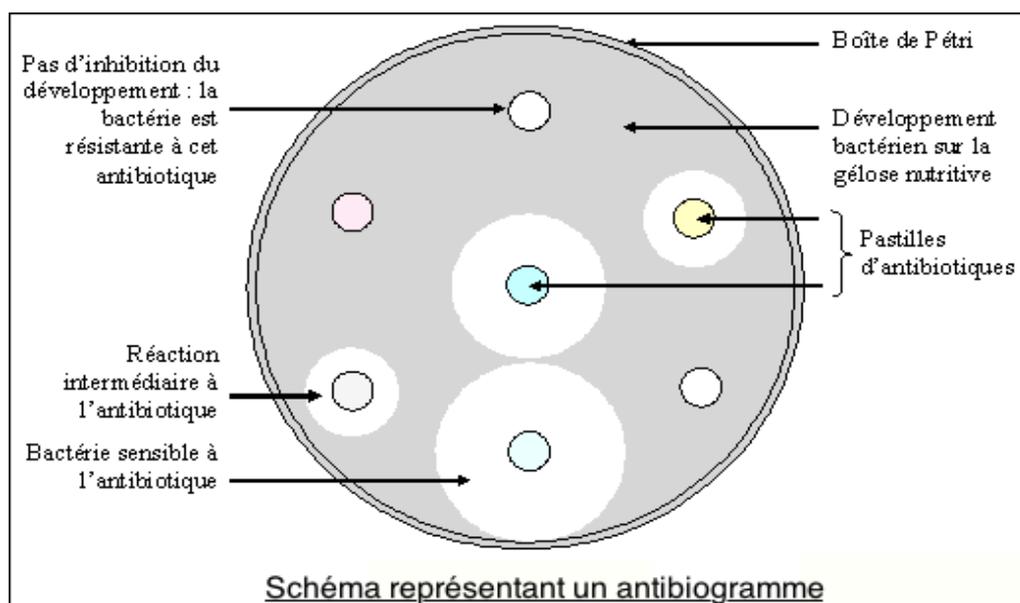


Figure 16: Antibiogramme [112]

III-5- 9-Bactéricide:

La bactéricide est l'arrêt du développement des micro-organismes par mort cellulaire avec/ou sans lyse. Cette activité est estimée in vitro par la mesure de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).

Pour mettre en évidence un effet bactéricide, il faut dénombrer les bactéries avant et après le contact avec l'ATB [113].

III-5- 10- Concentration Minimale Bactéricide (CMB):

On appelle concentration minimale bactéricide (CMB) la concentration d'ATB qui laisse moins de 0.01 % de survivants après 18h à 24h de culture à 37°C .

Les ATBs classés comme bactéricides sont ceux pour lesquels il y a peu d'écart entre la CMI et la CMB [114].

III-5- 11- Mode d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques bloquent de manière spécifique les processus métaboliques vitaux des bactéries sensibles et arrêtent ainsi leur développement, le plus souvent seulement temporairement (effet bactériostatique) mais parfois définitivement (effet bactéricide).

Il existe différents types d'antibiotiques capables d'agir sur les bactéries selon différents mécanismes :

- ✓ Antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.

- ✓ Antibiotiques qui altèrent la perméabilité de la membrane plasmique.
- ✓ Antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique.
- ✓ Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs. [1 1 5] , [1 1 6]

III-6- Caractéristiques des souches bactériennes utilisées :

1. Pseudomonas :

Le genre *Pseudomonas*, de la famille des *Pseudomonadaceae*, regroupe des bactéries mobiles aérobies Gram négatif, de 2 à 4 µm de longueur, en forme de bâtonnets renflés, avec un flagelle polaire qui joue un rôle important dans la pathogénicité . [117]

Ces bactéries sont asporulées et peuvent produire des pigments, tels que la pyocyanine (vert-bleu) et la pyorubrine (jaune-vert) fluorescentes . [118]

P. aeruginosa peut sécréter un vaste éventail de toxines extracellulaires, notamment l'exotoxine A et des entérotoxines D'autres substances comme l'acide hydrocyanique, des enzymes protéolytiques, des biofilms et des substances hémolytiques peuvent également contribuer à la pathogénicité de cette espèce. [119]

La combinaison de toxines et de substances dangereuses est un facteur qui joue un rôle déterminant dans la forte virulence de *P. aeruginosa* dans différents hôtes[120]

2. Klebsiella :

Les espèces du genre *Klebsiella* sont des bactéries Gram négatif en forme de bâtonnet, non mobiles et généralement encapsulées, qui appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. [121]

Ces bactéries produisent de la lysine-décarboxylase, mais pas d'ornithine-décarboxylase, et donnent en général un résultat positif au test de Voges-Proskauer.

Les membres de la famille des *Enterobacteriaceae* sont habituellement des anaérobies facultatifs, et leur taille varie de 0,3 à 1,0 µm de largeur et de 0,6 à 6,0 µm de longueur-. Les espèces du genre *Klebsiella* forment souvent des colonies mucoïdes .[122]

Le genre comprend 77 antigènes capsulaires (antigènes K) donnant naissance à différents sérogroupes. [121]

3. Escherichia coli :

Entérotoxigène (ECET) appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* .[123]

Il s'agit d'un bacille Gram négatif, en forme de bâtonnet, asporulé, qui peut se déplacer au moyen de flagelles péritriches ou être non mobile.

Les bactéries se développent sur gélose MacConkey (les colonies, rouges ou incolores, atteignent un diamètre de 2 à 3 mm) . [124]

Elles peuvent croître dans des conditions aérobies ou anaérobies , et produisent deux types d'entérotoxines : des entérotoxines thermolabiles (LT) (oligomériques) et des entérotoxines thermostables (ST) (monomériques [125]

4. Enterobacter :

Les espèces du genre Enterobacter font partie de la famille des Enterobacteriaceae [126]

Les espèces du genre Enterobacter sont des bacilles Gram négatif anaérobies facultatifs mesurant 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur; ils se déplacent grâce à un flagelle péritriche et sont dotés de pilus de classe 1 .

Ils produisent un acide à partir de la fermentation du glucose, donnent une réaction négative à l'épreuve au rouge de méthyle et une réaction positive au test de Voges-Proskauer; leur température optimale de croissance est de 30 °C(1). Quatre-vingts pour cent des bacilles sont encapsulés [126]

III-7- Résistances aux antibiotiques :

III-7- 1- Définition :

La résistance aux antibiotiques est la capacité d'un microorganisme de résister aux effets des antibiotiques. Elle se développe via sélection naturelle par une mutation aléatoire ou échange des gènes de résistance (transfère horizontal) entre les bactéries. Si une bactérie est porteuse de plusieurs gènes de résistance pour différent antibiotique, elle est appelée multirésistante [127].

III-7- 1- Mode de résistance des antibiotiques:

La résistance aux antibiotiques peut se manifester de deux manières distinctes : résistance naturelle et acquise .

➤ **Résistance naturelle :**

On parle de la résistance naturelle lorsque toutes les souches de la même espèce sont résistantes à un antibiotique donné [128]

➤ **Résistance acquise :**

La résistance acquise survient lorsque quelque souche d'une même espèce normalement sensible devient résistante. Cette résistance peut être acquise par métagénèse : c'est une résistance chromosomique [127]

Les bactéries ont la capacité de transférer l'information génétique, la plupart de ces cas de résistance se rencontrent à l'hôpital. C'est une information génétique exogène qui est récupérée par la bactérie [127]

III-7- 2- Mécanisme de résistance :

<i>Si l'antibiotique doit :</i>	<i>La bactérie peut :</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Pénétrer 	<ul style="list-style-type: none"> • Devenir imperméable ou s'opposer à son transport
<ul style="list-style-type: none"> • Ne pas être modifié ni détruit 	<ul style="list-style-type: none"> • Synthétiser des enzymes qui le modifient ou l'hydrolysent
<ul style="list-style-type: none"> • Se fixer à une cible 	<ul style="list-style-type: none"> • Protéger la cible

A. L'imperméabilisation

Concerne la membrane extérieure (pour les bactéries à Gram négatif) ou la membrane cytoplasmique (pour toutes les bactéries).

C'est le mécanisme le plus souvent responsable de la résistance naturelle (qui est un caractère propre à l'espèce). Il peut concerner :

- Les bêta-lactamines
- Les cyclines
- Les Phénicolés
- Les macrolides

B. L'inactivation

C'est le mécanisme le plus souvent responsable de la résistance plasmidique. Il concerne particulièrement :

- ❖ Les bêta-lactamines : pénicillinases, céphalosporinases hydrolysant la molécule
- ❖ Les aminosides : transférases qui phosphorylent, acétylent ou adénylent certains sites de la molécule
- ❖ Les phénicolés : transférase qui acétyle la molécule

On peut rencontrer ce mécanisme dans la résistance mutationnelle : certaines bactéries synthétisent des faibles quantités de bêta-lactamases (ce qui suggère une fonction physiologique de ces enzymes dans la vie de la cellule). Une mutation altère le gène de régulation et provoque une synthèse accrue (bêta-lactamase "dé réprimée").

C. Modification de la cible

C'est le mécanisme le plus souvent responsable de la résistance mutationnelle. La cible est légèrement modifiée par la substitution d'un acide aminé dans la protéine (s'il s'agit d'une enzyme ou d'une protéine ribosomale) ou la substitution d'un nucléotide (s'il s'agit de l'ARN ribosomal)

Il peut concerner :

- ❖ Les bêta-lactamines
- ❖ Les aminosides
- ❖ Les macrolides
- ❖ Les quinolones

On peut rencontrer ce mécanisme dans la résistance plasmique : dans le cas des macrolides, une méthylase modifie deux nucléotides du ribosome qui perd son affinité pour l'antibiotique. Dans le cas des sulfamides ou du triméthoprime, le plasmide code pour des iso enzymes qui ne fixent pas ces molécules [129],[130],[131]

III-8- conclusion :

La découverte des antibiotiques a été un progrès majeur en médecine et a révolutionnée la lutte contre les maladies infectieuses. Néanmoins, leur efficacité est réduite par l'apparition de résistances dues à une utilisation mal contrôlée. Les mécanismes

de la résistance sont néanmoins connus et doivent permettre aux soignants d'adapter leurs prescriptions.[132]

Deuxième partie

Partie expérimentale

Chapitre IV

Matériels et méthodes et Discussion des résultats

IV-1- Appareils et matériaux utilisés dans le travail:

La plupart des appareils, plantes antibiotiques, bactéries utilisées, solutions, solvant, verrerie, disques et papiers les plus utilisés dans le travail expérimental sont indiqués dans le tableau suivant :

Matériaux utilisés dans le travail
1 -Plante:
la plante <i>Artemisia Herba Alba</i>
2-Les antibiotiques
<i>Erythromycine (E)</i>
<i>Gentamicine (GEN)</i>
<i>Norfloxacin (NOR)</i>
<i>Spiramycine (SR)</i>
<i>Colistine (CL)</i>
<i>Amoxicilline + acide clavulanique (AMC)</i>
3 -Les bactéries utilisées:
<i>Escherichia coli</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Klepsiella pneumanie</i>
<i>Enterobacter</i>
4-Les solvants:
Ethanol
Ether
Dichlorométhane
L'acétate d'éthyle
Butan -1- ol
Chloroforme
Eau distillée
5- Les solutions:
Solution d'hydroxide de sodium (Na OH)
Solution de chlorure de potassium (KCl)
Solution de chlorure de mercure (Hg Cl)
Acide hydrochlorique (HCl)

Acide sulfurique concentré (H_2SO_4) Ferric chloride Acetic anhydride
6- Les verreries:
Thermomètre Erlen Meyer Bécher (100, 200, 500, 1000) ml Pipette Pipette pasteur Tubes à essai Entonnoir spatule
7- Les gels:
Gel Muller Hinton Eau physiologique
8- Les disques :
Disques antibiotique (diamètre 5 mm) Disques d'extrait végétal (diamètre 5 mm)
9- Les papiers:
Papiers filtres (N°3) Papiers filtres (N°1) Feuille d'aluminium
10- Les appareils:
Entrainement magnétique <i>Rota vapeur</i> Mixeur électrique Appareil UV visible Réfrigérateur Balance Four
11-Les outils:
Boîtes de pétris (taille moyenne) Pincés stériles Fil métallique

Bec benzène

Coton

Pince

montre

Bande adhésive

Règle régulière

Sacs en nylon transparent

IV-2-les étapes de travail les plus importantes :

Toutes les étapes de travail expérimental, concernant le traitement de la plante *Artemisia Herba alba* , peuvent être résumées dans le schéma suivant :

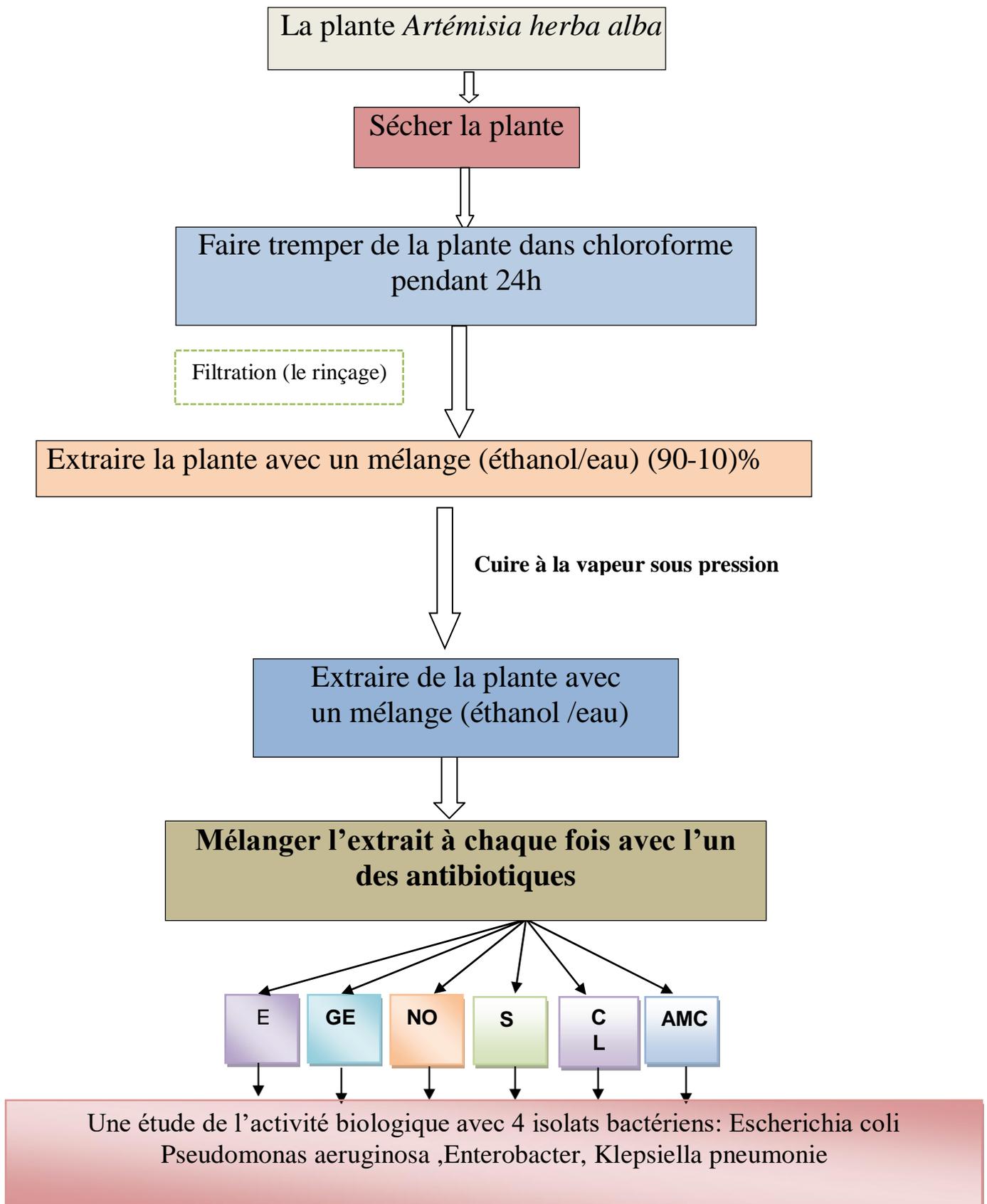


Figure 17: plan de travail

IV-3- Traitement des échantillons:

IV-3-1-Récolte de l'échantillon:

Le spécimen a été collecté dans la région de Guelta à -Aflou -, 1 échantillon a été collecté à une date 11/01/2021, après avoir été nettoyé de la poussière collée.

IV-3-2-Le séchage:

Après le processus de récolte vient le processus de séchage, dans lequel les racines de la plante sont étalées sur un sol recouvert de papier blanc pendant une période de deux mois, et l'échantillon est retourné tous les deux jours, afin qu'il ne pourrisse pas, car le lieu de séchage est loin de la lumière du soleil et contient une ventilation, et est exempt

D'humidité, et c'est à maintenir la plupart de ses composés et sans oxydation chimique, préservant ainsi ses propriétés curatives.

IV-3-3-Broyage d'échantillons:

Après le processus de séchage, on l'a mis dans un mélangeur électrique pour être broyé pendant 20 minutes pour obtenir la poudre de *Artemisia Herba Alba*, et la poudre est placée ensuite au réfrigérateur dans des sacs en nylon transparent propres.



Figure18: La plante *Artemisia Herba Alba* utilisée pour l'étude

IV-4- Détection chimique de certaines substances actives dans les racines de la plante *Artemisia Herba alba*:

Des méthodes approuvées ont été utilisées pour détecter les ingrédients actifs les plus importants dans les poudres sèches et douces de la plante.

IV-4-1- Test des glycosides:

Le test a été réalisé en ajoutant 2 ml de réactif de benedict à 1 g de poudre végétale placé dans un tube à essai, puis en agitant bien la solution et en la plaçant dans un bain d'eau bouillante pendant 5 min, puis en laissant le tube refroidir.

L'apparition d'un précipité rouge indique la présence des glycosides.

IV-4-2- Test des phénols:

Il a été détecté en utilisant une solution de chlorure ferrique préparée en dissolvant du chlorure ferrique dans l'eau distillée dans un rapport de 1%.

Ce réactif donne une couleur verte ou bleue lorsqu' il est ajouté à la quantité de poudre végétale dans le flacon de capacité contenant les composés phénolique.

IV-4-3- Test des alcaloïdes:

Deux méthodes ont été utilisées pour effectuer cette détection, après quoi les résultats ont été comparés:

Réactif marquis qui donne la preuve gris de la présence d'alcaloïdes.

Réactif de Meyer, qui donne une précipité blanche , indique également la présence d'alcaloïdes.

IV-4-4- Test des terpènes et des stéroïdes:

Un peu de chloroforme a été ajouté à 1 g de la poudre végétale , puis une goutte d'acétylcystéine anhydre y' a été ajoutée, et une goutte d' acide sulfurique concentré, Si une couleur brune apparaissait, c'est une indication que l' extrait contient des terpènes, et si le mélange était laissé pendant un moment et que la couleur bleue devient sombre, cela indique que l' extrait de plante contient des stéroïdes.

IV-4-5- Test des resins:

On prend 1g de la poudre végétale, et on y ajoute 20 ml eau distillée acidifiée avec l'acide chlorhydrique (HCl) 4%, le résultat positif est lu par l'apparition de la turbidité.

IV-4-6- Test des saponines :

Préparer une solution aqueuse de la poudre végétale 1g de la plante sèche dans 10ml d'eau distillée, dans un tube à essai puis agiter vigoureusement, jusqu'à ce qu'une mousse épaisse apparaisse. Quelques minutes restent indicatives de la présence de saponines.

En ajoutant (1-3) ml d'une solution de chlorure mercurique HCl₂ à une concentration 1 % à 5mg de poudre végétale et l'apparition du précipité blanc est une preuve du test positif.

IV-4-7- Test des Tannins :

Il a été détecté en faisant bouillir 10g de poudre végétale dans 50ml d'eau distillée , puis en filtrant la solution et en la laissant refroidir , puis on y a ajouté une solution de chlorure ferrique , car l'apparition de vert bleuâtre indique la présence des Tannins.

IV-4-8-Test des flavones :

Pour la détection des flavonoïdes, la solution à identifier, a été préparée en ajoutant 10 ml d'alcool éthylique à une concentration de 50 % à 10 ml d'une solution de chlorure de potassium (KOH) et à une concentration de 50 % également , et lorsque des quantités égales de cette solution et de l'extrait de plante sont mélangées , l'apparition de la couleur jaune indique la présence de flavones .

IV-4-9- Test des coumarines :

Mettre un peu d'extrait végétal dans l'éprouvette, 1 g de la plante sèche dans 10 ml d'eau distillée, les tubes ont été recouverts de papiers filtres humidifiés avec une solution diluée d'hydroxyle de sodium (NaOH) puis on met le tube dans un bain d'eau bouillante pendant quelques minutes. Ensuite, les papiers filtres ont été révélés à une source de rayons ultraviolets, car l'apparition d'une couleur verdâtre brillante indique la présence de coumarine.

IV-4-10- Test des huiles volatiles :

La méthode de détection des huiles essentielles est basée sur la prise de 10 ml d'extraits végétaux et la filtration, Après cela, les papiers filtres ont été saturés et exposés aux rayons Ultraviolets , et la couleur rose vif non visible, indiquant l'absence d'huiles essentielles.

Les résultats sont résumés dans le tableau 06 suivant :

Tableau 05: résultats de la détection chimique préliminaire de certaines substances actives de la plante *Artemisia Herba alba* .

Composés efficaces	La présence de composés dans les racines de la plante <i>Artemisia</i>
Glycosides	+
Phénols	+
Alcaloïdes	+
Terpènes	+
Stéroïdes	+
Resins	+
Saponines	+
Tannins	+
Flavones	+
Coumarines	+
Huiles volatiles	-

(+) : la présence de la substance active.

(-) : l'absence de la substance active.

IV-5-Extraction de la plante avec un solvant organique :**IV-5-1-Méthode d'extraction :**

100 g de la poudre de la plante *Artemisia Herba Alba* ont été trempées dans chloroforme pendant 24 heures afin de se débarrasser des graisses et de la chlorophylle. Après que chloroforme ait été éliminé du processus de filtration après séchage , la poudre de la plante a été trempée dans un mélange(éthanol /eau) (90 – 10) % et laissée pendant 24 heures sous agitation de temps en temps , puis filtrée de nouveau , la balle est répétée 3 fois de suite jusqu'à ce que tout l'ingrédient actif soit épuisé , puis la solution résultante est concentrée et séchée dans un évaporateur rotatif sous basse pression .

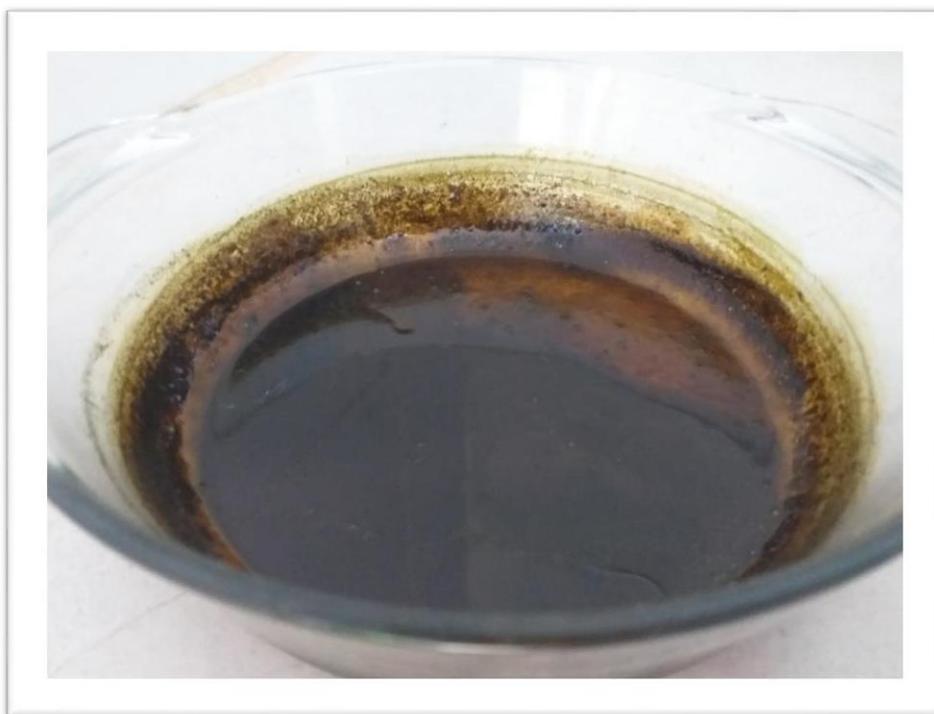


Figure19 : image montrant l'extrait de la plante *Artemisia Herba Alba*

IV-6- L'étude de l'activité biologique d'*Artemisia Herba Alba* :

Nous préparons des solutions d'extraits de mélange(éthanol /eau) de concentration qui sont 0.01 g/ml où le l'eau distillée a été utilisé comme solvant ,après cela , les propriétés biologiques que ces extraits peuvent porter ont été étudiées , nous avons étudié l'effet de ces extraits sur 4 types de bactéries nocives .

Bactéries utilisées :

Nous avons utilisé quatre types de bactéries qui sont:

Escherichia coli

Pseudomonas aeruginosa

Klebsiella pneumoniae

Enterobacter

IV-5-2-1- Mode opératoire:**a- préparation des disques :**

Nous coupons des papiers filtres sous forme de disques d'un diamètre de 5 mm , puis on les met dans un tube à essai pour stérilisation à l'intérieur du four à une température 130°C pendant une durée de 45 min .

b- préparation du milieu de culture :

Pour préparer les boîtes de pétris à utiliser un milieu Muller Hinton est utilisé , où il est dissous dans un milieu stérile et environ 20 ml sont versés dans chaque boîte , et le milieu est versée dans les boîtes avec un bec benzène pour éviter que le milieu ne soit endommagé par des bactéries .

c- préparation de la suspension bactérienne :

Chaque fois que nous prenons une tige de bactérie et la mettons dans un tube à essai contenant 10 ml eau physiologique, puis secouons . Ensuite, nous versons la solution dans des boîtes de pétris et la laissons pendant une courte période, puis vidons la solution de la boîte et laissons sécher pendant 5 min dans le four à une température 37 °C .

d- Culture et incubation de bactéries:

Une fois que nous sommes assurés que les boîtes de pétris sont sèches ,nous distribuons les disques, imbibés d'extrait de la plante, dans la boîte , car nous avons utilisé des papiers filtres (N°3) whatman ,qui ont été coupés sous formes de disques d'un diamètre de 5 mm puis stérilisés et imbibés d'extraits des plantes de différentes concentrations , et à l'aide de pinces stériles , nous le distribuons dans la boîte à la surface du milieu cultivé , en laissant des espaces appropriés entre eux . Nous le laissons pendant une courte période , après quoi nous le mettons au four pour incubation à température 37 °C pendant 24 heures , et il est placé à l'envers afin de ne pas endommager le milieu à cause de l'eau .

L'étude à été réalisée selon la méthode de préparation d'antibiogramme et ceci en modifiant la concentration de l'extrait avec chaque type de bactérie étudiée, le diamètre d'inhibition autour des disques des extraits végétaux a été mesuré en millimètres par la règle usuelle et les résultats ont été enregistrés dans le tableau :

Tableau 06 : Taux de diamètres d'inhibition pour l'extrait (Ethanol /eau) de plante *Artemisia Herba Alba* vis-à-vis bactéries.

Le diamètre d'inhibition en millimètre (R _{mm})				
Bactérie	Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa	Klepsiella pneumanie	Enterobacter
L'extrait de l'éthanol - eau 0.01 g/ml	16	10	13	14

e- Résultats:

Les résultats de la recherche chimique préliminaire ont montré que la plante *Artemisia Herba Alba* contiennent de nombreux principes actifs : Glycosides, Phénols , Alcaloïdes , Terpènes , Stéroïdes , Resins , Saponines , Tannins , Flavones et Coumarines qui sont des substances anti- bactériennes responsables de l'activité anti-micro-organisme . elles contiennent également toutes sortes de flavonoïdes, y compris des glycosides anti-oxydants , des phénols et des savons , quant à la nature des extraits qui ont été distingués avec une texture collante , les résultats ont montré que toutes les bactéries étudiées "*Escherichia coli*", "*Pseudomonas aeruginosa*" , "*Klepsiella pneumanie*" , "*Entérobactéries*" étaient sensibles aux extraits de la plante *Artemisia Herba Alba*.

A travers le tableau, le contraste clair du mesuré Taux de diamètres d'inhibition pour d'extrait (Ethanol /eau) de plante *Artemisia Herba Alba* à la concentration 0.01 g/ml.

On a observé Le plus grand diamètre d'inhibition en millimètre était de 16 mm avec la bactérie *Escherichia coli* ,et le plus petit diamètre d'inhibition était de 10 mm avec la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* .en ce qui concerne les bactéries *Klepsiella pneumanie* , *Entérobactéries* , Le diamètre d'inhibition était respectivement 13 mm et 14 mm.

l'effet de l'extrait peut être attribué sur la perméabilité de la membrane cellulaire et le fonctionnement de la cellule bactérienne, et l'efficacité des extraits de la plante *Artemisia Herba Alba* est due à la présence de nombreux principes actifs qui ont une activité inhibitrice sur les bactéries .

IV-7-L'étude de l'activité biologique des antibiotiques:**a- Antibiotiques utilisés :**

Dans cette étude il y a 6 types d'antibiotiques . ils sont les suivants :

- *Erythromycine (E)*
- *Gentamicine (GEN)*
- *Norfloxacin (NOR)*
- *Spiramycine (SR)*
- *Colistine (CL)*
- *Amoxicilline + acide clavulanique (AMC)*

b- bactéries utilisées :

Quatre isolats bactériens, diagnostiqués et examinés, ont été prélevés au laboratoire de microbiologie de l'Institut Pasteur – Algérie – ils sont les suivants :

- *Escherichia coli*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Entérobactéries*

c- préparation du milieu de culture :

Pour préparer les boîtes de pétris, on utilise du milieu Muller Hinton . il est dissous dans un milieu stérile et environ 20 ml sont versés dans chaque boîte . le milieu est versé dans les boîtes avec un bec de benzène pour éviter d'endommager le milieu par des bactéries.

d- préparation de la suspension bactérienne :

Nous prenons une tige de bactéries à chaque fois et l'on met dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau physiologique, puis on agite, puis on verse la solution dans des boîtes de pétris et l'on laisse pendant un court instant , puis on se débarrasse de la solution de la boîte et on laisse sécher pendant 5 min dans l'étuve à une température de 37°C.

e- ensemencement et incubation :

Après avoir assuré que le plateau de pétri est sec, nous plaçons les disques d'antibiotiques, à l'aide de pinces stériles sur la surface du milieu cultivé. puis ils sont distribués dans la boîte, en laissant des espaces appropriés entre eux. Les boîtes sont incubées à 37°C.



Figure 20: comment mesurer le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques d'antibiotique avec une règle.

Le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques d'antibiotique a été mesuré en millimètres au moyen d'une règle standard et les résultats sont consignés dans le tableau

Tableau 07 : taux des diamètres d'inhibition des antibiotiques (en millimètre) contre les bactéries.

		Le rayon d'inhibition (R _{mm})			
Les bactéries Antibiotique		Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa	Klepsiella pneumanie	Enterobacter
E		25	10	14	08
GEN		20	26	22	30
NOR		24	09	30	26
SR		22	10	10	23
CL		17	18	17	16
AMC		07	10	08	07

f- Résultats :

Le tableau 07 montre les taux de diamètres d'inhibition pour 06 antibiotiques pour la croissance de quatre espèces bactériennes , l'étude à montré que toutes les bactéries utilisées étaient 100 % sensibles à (GEN), (NOR) , (CL), (E) , (SP) et (AMC) .

IV-8-Etude de l'effet synergique entre l'extrait de *Artemisia Herba Alba* et les antibiotiques :

A ce stade, nous appliquons des disques d'antibiotiques qui ont été saturés d'extrait d'(éthanol /eau) de la plante *Artemisia Herba Alba* avec une concentration de 10-2g/ml , où l'eau a été utilisé comme solvant . Les disques ont été placés par des pinces stériles sur la surface du milieu cultivé , puis distribués dans la boîte en laissant des espaces appropriés entre eux . les boîtes sont incubées à 37°C.

Le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques d'antibiotiques saturés d'extrait de plante *Artemisia Herba Alba* a été mesuré en millimètres au moyen d'une règle standard, et les résultats sont enregistrés dans le tableau suivant:

Tableau 08 : taux des diamètres d'inhibition de l'antibiotique en (mm) contre les bactéries.

Les bactéries	Le rayon d'inhibition (R _{mm})			
	Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa	Klepsiella pneumanie	Enterobacter
Plante/antibiotique				
<i>Artemisia/E</i>	13	09	12	08
<i>Artemisia/GEN</i>	26	17	26	32
<i>Artemisia/NOR</i>	26	24	26	25
<i>Artemisia/SR</i>	10	10	10	24
<i>Artemisia/CL</i>	15	20	18	18
<i>Artemisia/AMC</i>	08	07	11	11

IV-8-1- Discussion des résultats:

Le tableau 08 montre les taux d'inhibition de la croissance bactérienne avec le mélange d'extraits *d'Artemisia Herba Alba* et d'antibiotiques, car tous les isolats étudiés ont montré leur sensibilité à la combinaison extrait de (*Artemisia /GEN*) à des taux compris entre 17 et 32mm, ce qui est le taux le plus élevé du groupe par rapport aux autres combinaisons. Les isolats étudiés ont également montré leur sensibilité à l'association extrait de (*Artemisia/NOR*) à des taux compris entre 24-26 mm, comme pour le mélange d'extrait de (*Artemisia/SR*) à des taux compris entre 10-24 mm, et le mélange extrait de (*Artemisia/CL*) à des taux compris entre 15-20 mm, et le mélange d'extrait de (*Artemisia/E*) à des taux allant de 08-13mm, tandis que le mélange d'extrait de (*Artemisia/AMC*) à des taux compris entre 07-11 mm. Pour connaître l'efficacité de la combinaison d'extrait *d'Artemisia Herba Alba* avec des antibiotiques, nous comparons le diamètre d'inhibition de l'extrait de *Artemisia* et le diamètre d'inhibition de l'antibiotique avec le diamètre d'inhibition du mélange d'extrait de *Artemisia / antibiotique*, où nous soustrayons l'extrait qui a un diamètre d'inhibition supérieure au diamètre d'inhibition du mélange pour voir l'efficacité du mélange, par exemple, avec *Pseudomonas aeruginosa* le diamètre d'amortissement de l'extracteur de *Artemisia* était de 10 mm tandis que le diamètre d'amortissement de l'antagoniste NOR était de 09mm, tandis que le diamètre d'amortissement de l'extrait de *Artemisia / NOR* était de 24 mm, nous soustrayons donc le diamètre d'amortissement le plus grand qui est *L'Artemisia* du diamètre d'amortissement du mélange comme :

$$\Delta R = 24 - 10 = +14$$

$$\Delta R = R_{(\text{mélange})} - R_{(\text{mélange ou l'extrait})}$$

On note que le diamètre d'amortissement du mélange augmente de 14 mm par rapport au diamètre d'amortissement de l'extrait de *Artemisia*, tous les résultats peuvent être résumés dans le tableau suivant :

Tableau 09 : comparaison des taux des diamètres d'inhibition des antibiotiques avec leur mélange et l'extrait de la plante *Artemisia Herba Alba* (en mm) contre les bactéries .

Les bactéries Plante/antibiotique	Le rayon de corrosion (R _{mm})			
	Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa	Klepsiella pneumoniae	Enterobacter
<i>Artemisia</i> R ₁	16	10	13	14
E R ₂	25	10	14	08
E / <i>Artemisia</i> R ₃	13	09	12	08
$\Delta R_1 = R_3 - R_{(1 \text{ ou } 2)}$	-12	-1	-2	-6
GEN R ₃	20	26	22	30
GEN / <i>Artemisia</i> R ₄	26	17	26	32
$\Delta R_2 = R_4 - R_{(1 \text{ ou } 3)}$	+6	-9	-4	+2
NOR R ₅	24	09	30	26
NOR / <i>Artemisia</i> R ₆	26	24	26	25
$\Delta R_3 = R_6 - R_{(1 \text{ ou } 5)}$	+2	+14	-4	-1
SR R ₇	22	10	10	23
SR / <i>Artemisia</i> R ₈	10	10	10	24
$\Delta R_4 = R_8 - R_{(1 \text{ ou } 7)}$	-12	00	-3	+1
CL R ₉	17	18	17	16
CL / <i>Artemisia</i> R ₁₀	15	20	18	18
$\Delta R_5 = R_{10} - R_{(1 \text{ ou } 9)}$	-2	+2	+1	+2
AMC R ₁₁	07	10	08	07
AMC / <i>Artemisia</i> R ₁₂	08	07	11	11
$\Delta R_6 = R_{12} - R_{(1 \text{ ou } 11)}$	-8	-3	-2	-3

Le tableau 09 montre une comparaison des taux des diamètres d'inhibition des antibiotique avec le mélange d'extrait *d'Artemisia* et d'antibiotiques en mm vis-à-vis des bactéries , car la comparaison a montré que tous les isolats étudiés sont sensibles aux mélanges à des taux différents , certains des mélanges ont été élevés au niveau requis et d'autres non , donc certains antibiotiques la vitalité a inhibé l'action des ingrédients actifs de l'extrait *d'Artemisia* et certains des éléments de l'extrait *d'Artemisia* ont diminué l'efficacité de l'antibiotique dans le mélange .

Dans le mélange (*Artemisia/NOR*) , il était plus efficace que l'extrait de *L'Artemisia* et l'antibiotique (NOR) sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* , tandis que l'association extrait de (*Artemisia/GEN*) était plus efficace que l'extrait de *L'Artemisia* et (GEN) antibiotique sur les bactéries *Escherichia coli* , *Klepsiella pneumanie* , Entérobactéries , , la combinaison extrait de(*Artemisia/CL*) était plus efficace que l'extrait de *L'Artemisia* et antibiotique (CL) sur ,*Pseudomonas aeruginosa* , *Klepsiella pneumanie* et Entérobactéries. tandis que la combinaison de l'extrait de (*Artemisia/SR*) était plus efficace que l'extrait de *L'Artemisia* et l'antibiotique (SP) sur Entérobactéries , tandis que la combinaison d'extrait de (*Artemisia/E*) n'était pas aussi efficace que l'extrait de *L'Artemisia* et d'antibiotique (E) et aussi la combinaison d'extrait de(*Artemisia/AMC*) n'était pas efficace que l'extrait de *L'Artemisia* et d'antibiotique (AMC).

Conclusion

Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

Le travail présent, nous avons pu étudier la plante *Artemisia Herba Alba* et comparer l'activité antibactérienne et l'effet synergique de l'extrait de plante *Artemisia Herba Alba* avec certains antibiotiques ainsi qu'avec l'extrait (éthanol / eau) contre quatre isolats bactériens , nous avons constaté que l'extrait (éthanol / eau) de la plante a un grand effet sur les groupes bactériens épidémiologiques, tels que *Klebsiella pneumoniae* qui est la plus fréquente des bactéries à Gram négatif impliquée dans les cas de pneumonies nosocomiales. Ces bactéries causent jusqu'à 9 % des infections nosocomiales. ce qui signifie que cet extrait de plante peut être utilisé pour inhiber ou supprimer la propagation des bactéries afin d'assurer la protection de la santé.

Nous avons également remarqué que les racines de la plante *Artemisia* avaient un effet synergique avec l'extrait (éthanol / eau) ainsi qu'une effet synergique avec les antibiotiques : Gentamicine (GEN), Norfloxacin (NOR), Spiramycine (SR) , Colistine (CL).

Ces résultats nous sont confirmés que *Artemisia Herba Alba* est une plante médicinale qui élabore une importance non négligeable en médecine. En effet, elle possède de nombreuses propriétés thérapeutiques. Aussi on peut dire que cette plante possède une activité antioxydant modéré, et peut être utilisée comme une source d'agents antimicrobienne qui ouvre des perspectives intéressantes.

***Références
bibliographiques***

Références bibliographiques

- [1], Amarti, F., Satrani, B., et Aafi, A. (2008). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydant de l'huile de *Tymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie*. 6 : 342-347.
- [2], Gomes, C. et al. (2012). Evaluation of subchronic toxicity of the hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 142, 481-487.
- [3], Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal of Arzneimittel-Forschung*. 46 : 1086-1089.
- [4], Fattorusso, E., Tagliatela, S.O. (2008). *Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis and Biology*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim. 641p.
- [5], Facchini, P.J. (2001). Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. *Plant Physiology*. *Plant Molecular Biology*. 52:29-66.
- [6], Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques et Documentation*. 4e ED. Lavoisier. Paris. 1243p
- [7], ANTOINE G. (2009). *Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux*. Support de cours, Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1-L2 UE PHR, France.
- [8], Valnet J. *Aromathérapie traitement des maladies par les essences des plantes*. Maloine S.A. France. 1984, 10, 23 – 178.
- [9], ([www.passeportsante.net/santé au naturel/thérapies](http://www.passeportsante.net/santé%20au%20naturel/thérapies)).
- [10], Zeghad N. (2008) *Etude du contenu polyphénolique de 2 plantes médicinales d'intérêt économique Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne*. Thèse de magister. Université Mentouri Constantine.
- [11], (<http://sante.lefigaro.fr/sante/specialite/homeopathie/quest-ce-que-cest>)
- [12], ([www.passeportsante.net/santé au naturel/thérapies](http://www.passeportsante.net/santé%20au%20naturel/thérapies))
- [13], Halberstein, R.A. (2005) *Medicinal Plants: Historical and Cross-Cultural Usage Patterns*. *Annals of Epidemiology*, 15, 686-699.
- [14], Odile C and Daniel R. (2007) *Botanique Pharmacognosie Phytothérapie*. 3eme Edition, Wolters Kluwer France: 141
- [15], Gurib-Fakim A. (2006) *Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow*. *Molecular Aspects of Medicine*. 27: 1-93.
- [16], (Larousse des plantes médicinales, 2001)
- [17], Berton H. (2001) *Sorcellerie en Auvergne : Sorciers, guérisseurs, médecine magiques et traditionnelles*. Editions De Borée (Clermont-Ferrand), France : 288
- [18], Boulemtafes (2017b) *Floristic diversity of the Cap de Garde (North-East Algeria)*, *International Journal of Biosciences*, 10: (6), 131-149.
- [19], Benzeggouta N. (2014). *Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinée*. Thèse de Doctorat en Sciences PharmacoChimie. Université Mentouri-Constantine. 118p.
- [20], Baba Aissa. (1999). *Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb)*. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident (Ed. Edas)
- [21], Pierre M., Lis .M (2007) *Secrets des plantes*. Editions Artemis, Paris 1: 463

Références bibliographiques

- [22], Lucchesi M.E. 2005. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, discipline: Chimie. Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies, France.
- [23], Da Silva J. A., December 2004. Mining the essential oils of the Anthemideae. African Journal of Biotechnology Vol. 3 (12), 706-720 p.
- [24], Goudjil M.B. 2016. Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse de Doctorat, Université Kasdi Merbah, Ouargla, 200 p
- [25], Mucciarelli M and Maffei M. (2002). Artemisia: Introduction to the Genus Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp: 10-16.
- [26], Kundan S., and Anupam S. (2010). The Genus Artemisia: A Comprehensive Review. J. Pharm. Biol. pp:1-9.
- [27], Mirjalili. M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E., and Sonboli. A. (2007). Phenological Variation of the essential oil of Artemisia scoparia from Iran. J. Essent. Oil Res. 19 : 326–329
- [28], The Euro+Med PlantBase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity
- [29], Hurabielle M., and Eberle J. (1982). Flavonoids of Artemisia campestris ssp. glutinosa. Planta Med. 46 (2):124–125
- [30], Segal, Ruth; Breuer, Aviva; Feuerstein, Ilan (1987). "Irregular monoterpene alcohols from Artemisia herba-alba". Phytochemistry. 19 (12): 2761–2.
- [31], Benjilali B. et Richard H., 1980: Etude de quelques peuplements d'Armoise blanche du Maroc « Artemisia herba alba ». Rivista Italiana E.P.P.O.S. n°2. Pp. 69-74
- [32], BOUTEKJENET. C: Contribution à l'étude chimique d'artémisia herba alba, projet de fin d'étude en génie chimique. Ecole nationale polytechnique Alger, 1987.
- [33], (Besanger-beauquesne et al. 1975 Quezel et santa, 1963).
- [34], POURRAT. Y: Propriétés éco-physiologiques associées à l'adaptation d'artémisia herba alba, plante d'intérêt pastoral au milieu désertique, thèse du 3ème cycle à l'université de Paris 1974.
- [35], AIDOUD. A, 1989. Les écosystèmes armoise blanche (artémisia herba alba Asso). II: phytomasse et productivité primaire. Biocénoses, 1-2: 70-90p.
- [36], bendahou M., 1991. Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatique et médicinales de l'ouest algérien. Thèse de doctorat. Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen, Algérie. 295p.
- [37], OZENDA. P : Flore du Sahara, 2ème éd CNRS, (France), 441pp, 1985.
- [38], Etude du pouvoir antibactérien d'Artemisia herba alba « CHIH », Mémoire de fin d'études Présenté par Mlle KHEDDOUM Naima Loudjaine
- [39], Ourcival J.M. 1992. Réponse de deux chamaephytes de la Tunisie présaharienne à différentes contraintes et perturbations. Thèse Doc. USTL, Montpellier, 167 p.
- [40], Le Floch, E 1989 : The dynamics of vegetation and sand mobility in arid regions of Tunisia. - J. Arid Environrnents 18: 21-32.
- [41], Floret C., Pontanier Roger. (1982). L'aridité en Tunisie présaharienne : climat, sol, végétation et aménagement. Paris : ORSTOM,
- [42], Evenari M, coll 1976. Les problèmes physiologiques de la germination. Bull. Soc. Fr. Physiol. Vég., 3, 105-124. Evenari M., Kadouri A., Gutterman Y., 1977. Ecophysio, . Les

Références bibliographiques

- problèmes physiologiques de la germination. Bull. Soc. Fr. Physiol. Vég., 3, 105-124. Evenari M., Kadouri A., Gutterman Y., 1977. Ecophysio
- [43], Nabli M.A. (1989). Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisienne. Programme flore et végétations tunisiennes. Faculté Des Sciences de Tunis, 4(A6), 193 p.
- [44], CELLES. J. C - Biologie et écologie végétales des régions arides univ de Nice. 1980, 1-20.
- [45], POUGET. M. Les relations sol-végétation dans les steppes. Trav. Doct. De orstom, 1989, 556p
- [46], Hartmann, T., (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism, Review. Phytochemistry 68 2831–2846.
- [47], Diallo D. (2000). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them : *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros* Thèse de doctorat, Lausanne, 148-176.
- [48], Harborne J.B. 1973. Phytochemical method. Chapman and Hall, Ltd, London
- [49], Thomas, O.P. (2009) ; métabolisme secondaire et biosynthèse. master 2 VEM. université nice sofia Antipolis .
- [50], Walton et Brown; 1999 Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed: WORLD SCIENTIFIC; .P20
- [51], Lugasi A., Hovari J., Sagi K., and Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases
- [52], Bruneton J. (1993) Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed Tec&Doc. Paris.
- [53], Lebham, (2005). Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO). • Lechat P.; Lagiers G.; Rouveix B. ; Vincen
- [54], Bahorun T., (1997). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Journal Article .46(11):1086-1089p
- [55], Hemingway, R.W. (1992). Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: L'ant polyphénols: synthèse, propriétés, significande. Laks P.E, Hemingway R.W New York
- [56], Cavin, A. (1999). Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: *Tinos poracispa* (Menispermacées), *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneanda* (Annonacées). Thèse de doctorat Lausanne, p 241
- [57], Guingard, J. (1996). Biochimie végétale, Ed. Lavoisier, Paris, p 175-192. UE PHR
- [58], Bruneton, J. (1999), Pharmacognosie, 3e édition, Tec et Doc, Paris, 310, 316, 619 ;620
- [59], Meddleton, E; Kardasami, J.C. (1993). The flavonoids Advances. In: research since 1986. J B Harborne, Chapman and Hall, London, p 617-652
- [60], Medic Sanic, M; Jasprica, I; Smolcic Bubalo, A; et Mornar, A. (2004). Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids, Croatica Chemica Acta, p 361-366

Références bibliographiques

- [61], Fiorucci S.,(2006). Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Université Nice-Sophia Antipolis, 212 p.
- [62], Hart KJ., Yánez-Ruizd R., Duvals M., Mcewann R., Newboldc J., 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal feed science and technology*, Vol (147): 8–35.
- [63], Wallace RJ., 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of nutrition society*, Vol (63): 621–629
- [64], Dacosta Y., (2003). Les phytonutriments bioactifs. Editions Yves Dacosta Paris, 317 p
- [65],Packer L., (2001). Flavonoids and other polyphenols. Ed Academic Press,California, 483 p.
- [66], Jean-Baptiste FÉRET ;(2009) ; Apport de la modélisation pour l'estimation de la teneur en pigments foliaires par télédétection. these de doctorat de l'universite pierre et marie curie .France.
- [67], El Abed D., Kambouche N. (2003). « Les Huiles essentielles », Editions Dar El Gharb
- [68], Fernandez X., Chemat F. (2012). La chimie des huiles essentielles : Tradition et innovation,Ed. Vuibert, Paris. P : 122.
- [69], Daniel M. (2006). Medicinal Plants : chemistry and properties, Ed : Sceince publishers. P :59-77.
- [70], Abu-Darwish (2015). Artemisia herba-albaessential oil from Buseirah (South Jordan): Chemical characterization and assessment of safe antifungal and anti-inflammatory doses. *J. Ethnopharmacol.*, 174, 153-160
- [71], Aidoud,1983.Les écosystèmes armoise blanche (*Artemisia herba-alba*Asso.). II: Phytomasse et productivité primaire. *Biocénoses*. 2(1) : 70-90.
- [72], 67.HATIER 1989 les plantes sauvage comestible
- [73], Grund L., (1983) – Connaître et reconnaître les plantes médicinales, Ed Ouest-France. 333 p.
- [74], (institut National Agronomique El Harrach,1988).
- [75], Hartmann, T., (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68: 2831 2846p.
- [76],EPIFANO, F.,GENOVESE, S.,MENGHINI, L.,et CURINI, M.,(2007).Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68:939 – 953p.
- [77],FLEURIET, A., JAY-ALLEMAND, C., et MACHEIX, J.J., (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, 121-216p.
- [78],KRIEF, S., (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle,32p.
- [79],Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de Doctorat. Université de Bamako, Bamako, Mali.

Références bibliographiques

- [80], Dunet, J. (2009). Réaction de Mickael et mannich appliquées a des arylcyclohexa-2,5-diens en vue la synthèse d'alcaloïdes de type aspidosperma et morphinanes. Thèse doctorat. Université de Bordeaux. 262p
- [81], Croteau, R., Kutchan, T.M., & Lewis, N.G., (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. 1269p.
- [82], Schauenberg, P., & Paris, F. (2005). Guide des plantes médicinales .Analyse , description et utilisation de 400 plantes . 2éme édition. Ed . Delachaux et Niestlé , Neuchâtel. Suisse.396p.
- [83] ,Hess M. (2002). Alkaloids ,Nature's Curse or Blessing 1ére édition . Ed. WileyVCH, New York . USA.297p.
- [84], CHIMIE ORGANIQUE HÉTÉROCYCLIQUE. COR 706. Professeur Guillaume Bélanger. UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE.
- [85], RAKOTONANAHARY M. (2012). Peumus boldus M. : de la botanique à la thérapeutique. Thèse de Doctorat. Université Joseph Fourier, Grenoble, France.
- [86] ,MEDJEBER M., SMAÏL-SAADOUN N. et SAÏDI F. (2017). Activité antimicrobienne de deux espèces d'aspergillus : mycoendophytes foliaires de *Limoniastrum feei* (girard) batt. D'Oued Aghlal (Bechar, Algérie). *Agrobiologia*, 8(1) : 871-878.
- [87] ,Mauro, N. M. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxina et la (±)-camptothécine, thèse doctorat. p13, 16-28.
- [88] ,<https://www.universalis.fr/encyclopedie/alcaloïdes/7-proprietes-physico-chimiques/>
- [89], Ghedjati, N. (2014). Toxicité aiguë et subaiguë des alcaloïdes naturels et synthétiques des graines du *Datura stramonium*. Mémoire de Magister en Biologie. Université Ferhat Abbas Sétif 1. 63 p
- [90], Dih, A., & Belguendouz, A. (2017). Contribution à l'étude phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des alcaloïdes extraits d'*Osyris alba* L, récoltée au niveau de la région de Beni-Snousse. Tlemcen. Mémoire de Master en biologie. Université Abou-Bekr Belkaïd. Tlemcen. 39 p.
- [91], Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales . (4 ème éd). Paris: Lavoisier, Cachan. (Éd). Médicales internationales .
- [92], <https://www.universalis.fr/encyclopedie/alcaloïdes/9-extraction-et-purification/>
- [93], <https://fr.wikipedia.org/wiki/Alcaloïde>
- [94], Ali-Shtayeh, MS., Yagmour, RM-R., Faidi, YR., Salem, K., Al-Nuri, MA. 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of ethnopharmacology*, 60,265-271.
- [95]. Pocidallo J-J (1989) Des infections d'origine microbiennes ou virale. In: Brisset C et Stoufflet J (Directeurs) Santé et médecine, l'état des connaissances et des recherches. Editions LaDécouverte / INSERM / ORSTOM.
- [96] Marc T.; Gerard W.; Denis L (2001). Classification des anti-inflammatoires in Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4ème Edition. P 426.
- [97], Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995). Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris
- [98], Madigan, M. T., Martinko, J. M. & Parker, J. [Eds] 1997. *Biology of Microorganisms*, 8th ed. Prentice Hall Upper Saddle River Press, London, 986 pp.

Références bibliographiques

- [99] ,Lechat P.; Lagiers G.; Rouveix B. ; Vincens M.; Weber S. (1992). Abrégé de pharmacologie médicale. 4ème édition Masson M, Paris. P 764
- [100] ,SIMONET M, “Structure mode d’action des antibiotiques et mécanisme de la résistance bactérienne. In :Berchem P, Gaillard JL, et Simonet M.L es bactéries des infections humaines. Flammarion, Paris.”
- [101] ,. “Les grandes familles d’antibiotiques. In: Carbon C, Mariel C, Veyssier P. eds. Guide pratique de l’antibiothérapie. Paris, Midy,” pp. 9–15, 1993
- [102],BOUGOUDOGO F, “Cours 4ème Année pharmacie Bamako:Generalite sur les antibiotiques.”
- [103] ,. Anne.decoستر.free.fr, “Classification des antibiotiques
- [104] ,KONE MNS. Etude de la consommation des antibiotiques, antipaludiques et des analgésiques non morphiniques dans l’unité des urgences du service de pédiatrie du CHU Gabriel TOURE [Internet] [Thèse de médecine]. Université de BAMAKO; 2009. Disponible sur: <http://www.kenya.net/fmpos/theses/2009/med/pdf/09M396.pdf>
- [105],D.MOHAMMEDI. Classification et mode d’action des antibiotiques [Internet]. 2012. Disponible sur: <http://www.sante.dz/aarn/classification.pdf>
- [106] ,Morghad Touhami. Surveillance et connaissance des attitudes et comportements des médecins et autres sur l’usage des antibiotiques et leur résistance [mémoire]. [Tlemcen]: Université Aboubekr Belkaïd; 2013.
- [107] ,Van Bambeke F, Pharm S. Pharmacologie et Pharmacothérapie anti-infectieuse. Syllabus Natl Belge Pharmacol. 2007;2008:1–134
- [108] ,Nauciel C, Vildé J-L. Bactériologie médicale, connaissance et pratique. 2ème édition. Paris: Masson; 2005. 273 p
- [109],Bouchakour Souad, Hammouchi Meryem. Analyse des prescriptions d’antibiotiques en ambulatoire chez l’enfant et du rôle du pharmacien d’officine dans leur bon usage [Mémoire]. [Tizi Ouzou]: Université Mouloud Mammeri; 2016.
- [110] ,Détermination de la CMI milieu liquide schéma des tubes - Recherche Google [Internet]. [cité 29 avr 2017]. Disponible sur: <https://www.google.fr/>
- [111] ,Bactériologie médicale: techniques usuelles. Issy-les-Moulineaux: Elsevier-Masson; 2011. 611 p.
- [112],antibiogramme schéma-Recherche Google [Internet]. Disponible sur: <https://www.google.fr/>
- [113],Bouchakour Souad, Hammouchi Meryem. Analyse des prescriptions d’antibiotiques en ambulatoire chez l’enfant et du rôle du pharmacien d’officine dans leur bon usage [Mémoire]. [Tizi Ouzou]: Université Mouloud Mammeri; 2016.
- [114],Nauciel C, Vildé J-L. Bactériologie médicale, connaissance et pratique. 2ème édition. Paris: Masson; 2005. 273 p.
- [115] ,Mammeri H. (2013). Mode d’action des antibiotiques. Service de bactériologie, CHU Amiens.P : 2.
- [116] ,Meziani M. (2012). Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l’établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas.Mémoire de Magister .Université Mentori.Constantine P 30,32 Microbial. Infect.10:12-13

Références bibliographiques

- [117], Willcox, M. D. (2007). Pseudomonas aeruginosa infection and inflammation during contact lens wear : a review. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, 84(4), 273-278. doi : 10.1097/OPX.0b013e3180439c3e
- [118], Palumbo, S. A. (1972). Role of iron and sulfur in pigment and slime formation by Pseudomonas aeruginosa. *Journal of Bacteriology*, 111(2), 430-436.
- [119], Liu, P. V. (1974). Extracellular toxins of Pseudomonas aeruginosa. *The Journal of Infectious Diseases*, 130 Suppl(0), S94-9.
- [120], Stover, G. B., Drake, D. R., & Montie, T. C. (1983). Virulence of different Pseudomonas species in a burned mouse model : tissue colonization by Pseudomonas cepacia. *Infection and Immunity*, 41(3), 1099-1104.
- [121], Abbott, S. L. (2007). Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 698-711). Washington, USA: ASM Press
- [122], Euzéby, J. P. (2010). List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47, 13 July, 2010. Retrieved from <http://www.bacterio.cict.fr/m/micrococcus.html>
- [123], Nataro, J. P., Bopp, C. A., Fields, P. I., Kaper, J. B., & Strockbine, N. A. (2007). Escherichia, Shigella and Salmonella. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 670-687). Washington, DC, USA : ASM press.
- [124], Farmer, J. J., Boatwright, K. D., & Janda, J. M. (2007). Enterobacteriaceae : Introduction and Identification. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 649-669). Washington, DC : ASM press
- [125], Wilson, W. R., Sande, M. A., & Drew, W. L. (2001). *Current diagnosis & treatment in infectious diseases*. New York : Lange Medical Books/McGraw-Hill. Retrieved from <http://online.statref.com/document.aspx?FxId=66&DocID=1&grpalias=>
- [126], Hart, C. A. (2006). Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter and Serratia spp.. In S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), *Principles and practice of Clinical Bacteriology* (2nd ed., pp. 377- 386). England, UK: John Wiley and Sons Ltd.
- [127], <http://www.technoscience.net/onglet=glossaire&definition=1039>
- [128], Meziani M. (2012). Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas. Mémoire de Magister .Université Mentori. Constantine P : 30 ,32 *Microbial. Infect.* 10:12-13
- [129], SIMONET M, "Structure mode d'action des antibiotiques et mécanisme de la résistance bactérienne. In : Berchem P, Gaillard JL, et Simonet M. Les bactéries des infections humaines. Flammarion, Paris."
- [130], Weber, Roussel M, Delvallez, Lauras G, Fosse T, Dupont M. J Perez. R. et Geslin. p, "Enquête épidémiologique régionale sur la résistance aux antibiotiques de streptococcus pneumoniae: Résultats préliminaires de 6 observatoires."

Références bibliographiques

[131] ,Lambert et Technovsky N, “Résistance bactérienne, In :Bergogne-Berretin E et Dellamonica P eds, Antibiothérapie et pratique clinique, Masson S.A Paris,” 1995

[132] , <https://www.groupeproxim.ca/fr/article/sante/antibiotiques>