



République Algérienne Démocratique Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure de la Recherche Scientifique
Université Chahid Chikh Larbi Tébessi -TEBESSA-



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département: Biologie Appliquée

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine: Sciences de la nature et de la vie

Filière: Sciences biologiques

Option: Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement

Thème

**Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs d'une plante médicinale
genre *Origanum* sur des isolats bactériens présentant différents profils de sensibilité
aux antibiotiques**

Présentée par :

Melle. Donia Charafeddine

Melle. Barkahoum Brik

Soutenu le: 05/06/2023

Devant le jury

Dr. Benhadj Mabrouka

M.C.A Université de Tébessa

Présidente

Dr. Boukoucha Mourad

M.C.A Université de Tébessa

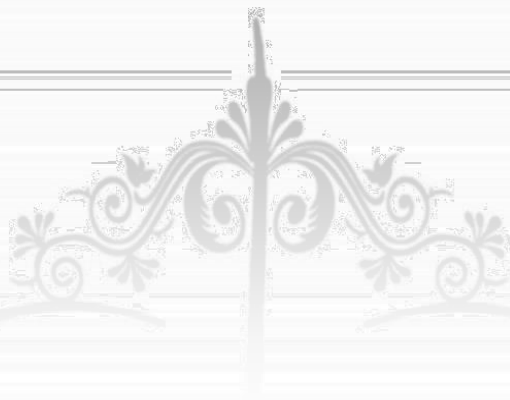
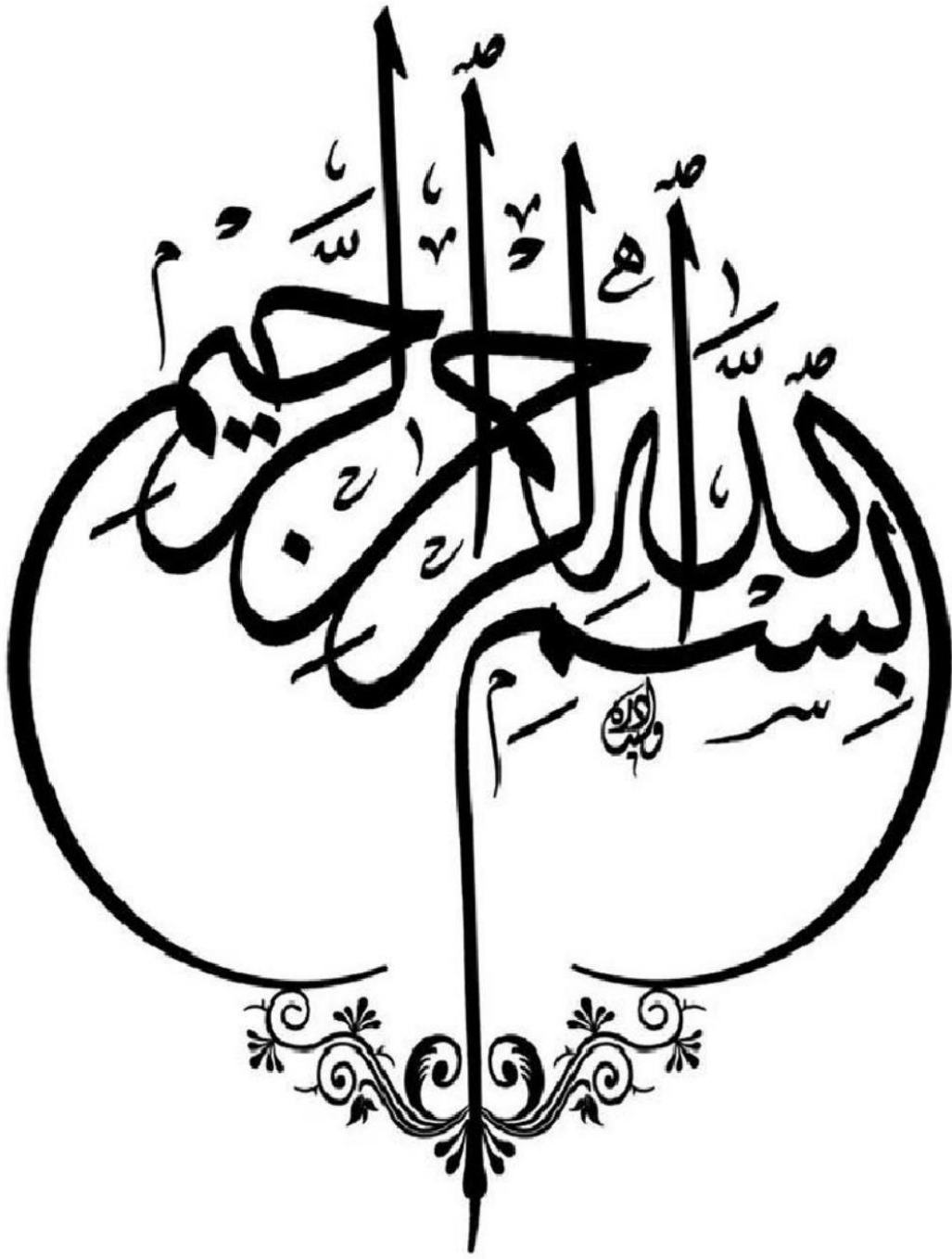
Rapporteur

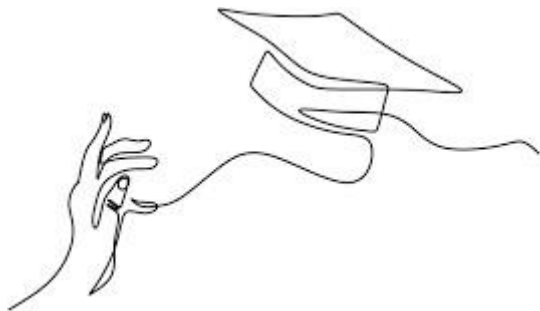
Dr. Zouaoui Nassim

M.C.B Université de Tébessa

Examineur

Année universitaire : 2022/2023





Remerciement

Avant tout, je remercie ALLAH de m'avoir donné le courage et la force de mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier **Dr BENHADJ M** (Maître de conférences A au Département de Biologie appliquée, Université de Tébessa) de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être Présidente du Jury

Nos vifs remerciements vont à **Dr. ZOUAOUI N** (Maître de conférences A au Département de Biologie appliquée, Université de Tébessa) pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

J'adresse également mes remerciements à mon directeur de mémoire **Dr. BOUKOUCHA MOURAD**, (Maître de conférences B au Département de Biologie appliquée, Université de Tébessa) qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, d'orienter et d'aider. Merci à son disponibilité, son patience, son soutien moral, ses conseils pertinents qui ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.

Nous remercions sincèrement **Dr BOUGERA N** pour ses précieux conseils et son aide dans la réalisation de ce travail.

Nos remerciements pour toutes les techniciennes du laboratoire et toutes les personnes pour leur aide continue au cours de la réalisation pratique de ce travail.

Un Merci spécial pour nos collègues et amis et toutes les microbiologistes, et à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.

Merci





الإهداء



إلى كل من أحبونا بصدق وكان الدعم سبيلهم إلينا خلال مشوارنا الطويل.
إلى الغالي, إلى كل شيبية من شيب أبي زينت رأسه وكل قطرة عرق سقطت من جبينه من أجل
وصولي لهذه اللحظة. أنت السند والقوة التي لطالما استمدتها من الحياة إلى شمسي (أبي).
إلى القلب النابض, إلى كل دمعة سقطت من عيني أُمي و كل تعب وسهر من أجل راحتي أنتي
الأمل الذي نحيا به في هذه الحياة إلى قمري (أُمي)
إلى أختي الحساسة والجميلة (أحلام) نجمتي المضيئة في الليالي المظلمة وداعمتي في أسوء
أيامي.

إلى إخوتي سندي (عبد الاله, سيف الدين, الحسن و الحسين والمعز لدين الله) أحبكم يا نجومى
إلى صديقتي الجميلة روميساء أعتز بكل لحظة قضيناها معا وكل ذكرى خلقناها في الأيام المليئة
بالضحكات والدموع والدروس والتحديات التي مررنا بها معا كنا فيها سنذا ودعما لبعضنا
البعض سألنا داخلي هذه الذكريات الثمينة والعلاقات القوية التي تشكلت بيننا في مسيرتنا
الجامعية.

إلى كل من نحب بصدق .

إلى العائلة و الأصدقاء المميزين اللذين لطالما أحيوا بداخلنا ذكريات لا تموت وتركوا أثرا جميلا
من القوة و الإرادة والحب.

(أسامة, إسمهان, منية, كنوز, أسامة لميطة, صفوى, هديل, عفاف)

إلى الظلال الخفية التي تمننت لنا كل الخير في غيابنا و دعمتنا في الخفاء بدعوات سهلت لنا هذا
الطريق.

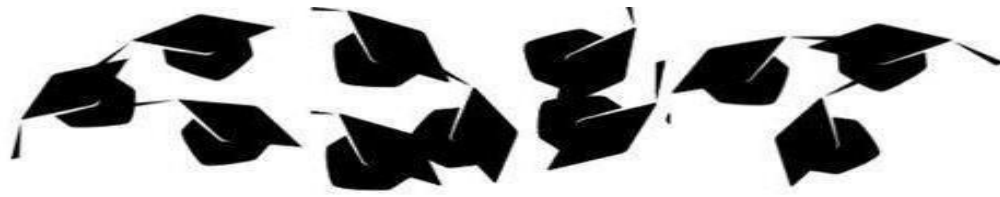
إلى قطي أشليفان الذي يسهر معي حتى أغلق الكمبيوتر و أنام.

إلى نفسي التي كانت مسيرتها الدراسية مسيرة يعتز بها إلى نفسي التي حاربت وتخطت كل
الصعوبات إلى نفسي التي بكت و ضحكت ومرت بكل لحظة لأصل هنا و أقول هذا.

إلى الأرواح الرائعة التي عاشت معنا هذه المغامرة الجامعية.

إلى العظماء أمثالي أهدىكم هذه الدراسة.





Dédicace

A mon cher père, mon soutien dans la vie, qui a été mon soutien et ma force, sans qui je n'aurais rien réalisé de tout cela.

Au cœur battant, **ma chère mère**, qui a travaillé dur et veillé pour moi et pour mon confort, ma mère merveilleuse et affectueuse, tu es l'espoir dans ma vie.

A mon frère **Amin**, mon soutien et mon étoile brillante dans les nuits noires. À mes sœurs, **Salma et Ahlem**, qui m'ont toujours donné le meilleur, m'ont gâté et m'ont soutenu dans mes jours difficiles.

À ma belle-sœur **Rafeeqa**, merci pour tout le soutien que vous avez apporté.

Aux barres de sucre dans notre maison (**Chahed, Noursine, Mouataz, Haroun, Rinad**)

A la plus belle fille du monde, **Donyati**, la belle amie merci pour chaque moment et chaque souvenir que nous avons passés ensemble. Nous avons traversé des journées remplies de rires et de larmes, et nous avons été le plus beau soutien l'une pour l'autre.

A mes belles amies qui m'ont apporté tout le soutien, tout l'amour et tout l'espoir pendant les jours difficiles, et elles étaient mes meilleures amies

(**Bouthaina, Malak, Rawen, Takwa, Houyem**)

À ceux que nous aimons vraiment de la famille et des amis et nous souhaitons tout le meilleur (**kounouz, Nourhen, Aicha, Yousra, Oumaima, Olfa, Salsabil, Anfel, Hadil, Aya, Chahra, Lina, Sajeda, Farah, Zaineb**) et toutes **les microbiologistes**

Aux ombres cachées qui nous gardent et nous souhaitent le meilleur, malgré la distance qui nous sépare, à celle que j'aime (**wassila**).

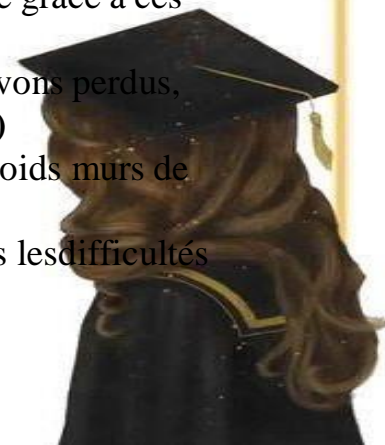
qui chaque jour, par sa compréhension, sa sollicitude et ses critiques à soutenu mes efforts et fait avancer cette étude. Ce travail existe grâce à ces encouragements (**H**).

Pour ceux qui nous ont quittés à la fin de leur vie et nous les avons perdus, mais ils sont dans la mémoire pour toujours (**sana**)

Pour qui je voulais être avec nous, pour nos proches dont les froids murs de prison nous séparaient les uns des autres (**Bilal**)

Enfin, une dédicace à **moi-même**, qui ai combattu et défié toutes les difficultés pour atteindre ce moment.

Roumaissa.



Résumé

La résistance des bactéries aux antibiotiques est la première cause d'échec thérapeutique en Maladies infectieuses. Par conséquent des stratégies antimicrobiennes alternatives sont devenues Obligatoire. Pendant de nombreuses années Les plantes médicinales ont été la meilleure source de Nouvelles molécules antimicrobiennes alternatives. Dans ce sens notre étude a eu pour objectifs: D'étudier l'activité antibactérienne des extraits bioactifs Alcooliques et Acétonique, obtenus par Différents protocoles, d'une plante médicinale genre *Origanum (Zaatar)* collecté a partir de la région de Ouad Souf (Sud-Algérie), sur des bactéries pathogènes appartenant aux genres: *Staphylococcus* ; *Entérobactéries*; *Pseudomenas*.

Le rendement de l'extraction Méthanolique 72h (**21,5%**) était meilleur que les trois rendements : Méthanolique 24h, Ethanolique et Acétonique avec lesquelles on a enregistré (8,5%), (10,5%) et (18,05%) respectivement. L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits a été réalisée par méthode des puits sur milieu gélosé. Une série de concentrations : (10mg/100ul), (0.5mg/100ul), (0.250mg/100ul) et (0.125mg/100ul) a été teste sur les différentes souches. Les résultats obtenus ont révélé une excellente ; très bonne et bonne activité des quatre extraits avec des intervalles de diamètres (>20mm) (>15 ; ≤ 20mm) et (>10 ; ≤ 15mm) respectivement vise à vis des Staphylocoques. Par ailleurs, une excellente activité a été obtenue seulement avec la solution mère des deux extraits Méthanoliques et de l'extrait Ethanolique vise à vis du genre *Pseudomenas* et *Entérobactéries* et une très faible activité de l'extrait Acétonique vise à vis des Entérobactéries avec des diamètres (> 06 et ≤ 10mm). L'étude de l'impact facteur temps de macération a permis de déduire que le rendement de l'extraction Méthanolique **72h (21,5%)** était meilleur que le rendement Méthanolique **24h** avec lequel on a enregistré (**8,5%**). Par contre l'activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique 24h était meilleur que celle Méthanolique 72h avec des trois genres bactériens testés. L'étude comparative de l'activité antibactérienne des différents extraits avec celles des antibiotiques testés a permis d'enregistrer une excellente, très bonnes et bonnes activités à l'égard des tous les profils d'antibiorésistance a l'exception de l'extrait Acétonique qui a enregistré une faible activité vise avis des entérobactéries. Les extraits alcooliques et Acétonique de notre plante genre *Origanum* peuvent être des sources prometteuses des substances bioactives inhibitrices des bactéries de trois genres avec ces différents profils d'antibiorésistance.

MOTS CLES : *Origanum*, Extraits alcooliques, Extrait Acétonique, Rendement, Bactéries, Activité antibactérienne, profil d'antibiorésistance, Etude comparative.

Abstract

Bacterial resistance to antibiotics is the leading cause of treatment failure in infectious diseases. As a result, alternative antimicrobial strategies have become obligatory. For many years medicinal plants have been the best source of new alternative antimicrobial molecules. In this sense, our study had the following objectives: To study the antibacterial activity of the bioactive extracts alcoholic and acetic, obtained by different protocols, of a medicinal plant genus *Origanum* (**Zaatar**) collected from the region of Oued Souf (south-Algeria), on pathogenic bacteria belonging to the genera: *Staphylococcus*; *Enterobacteria*; *Pseudomonas*. The yield of methanolic extraction 72h (**21.5%**) was better than the three yields: 24h Methanolic, Ethanol and Acetic with which were recorded (8.5%), (10.5%) and (18.05%) respectively. The evaluation of the antibacterial activity of the different extracts was carried out by well on agar medium. A series of concentrations: (10mg/100ul), (0.5mg/100ul), (0.250mg/100ul) and (0.125mg/100ul) was tested on the different strains. The results obtained showed an excellent; Very good and good activity of the four extracts with intervals of diameters ($>20\text{mm}$) ($>15; \leq 20\text{mm}$) and ($>10; \leq 15\text{mm}$) respectively aims to screw the Staphylococci. In addition, excellent activity was achieved only with the solution mother of the two methanolic extracts and the ethanol extract aims to the genus *Pseudomonas* and *Enterobacteriaceae* and a very low activity of the acetic extract aims to *Enterobacteriaceae* with diameters (>6 and $\leq 10\text{mm}$). The study of the time-factor impact of maceration made it possible to deduce that the yield of Methanolic extraction **72h (21.5%)** was better than the **24h** Methanolic yield with which were recorded (**8.5%**). On the other hand the antibacterial activity of the 24h Methanolic extract was better than that of Methanolic 2h with three bacterial genera tested. Comparative study of antibacterial activity of the different extracts with those of the antibiotics tested allowed to record an excellent, very good and good activities with respect to all antibiotic resistance profiles with the exception of The acetic extract that recorded low activity is aimed at *Enterobacteriaceae* notice.

The alcoholic and acetic extracts of our plant genus *Origanum* can be sources promising bioactive substances inhibiting bacteria of three genera with these different antibiotic resistance profiles.

KEY WORDS : *Origanum*, Alcoholic extracts, Acetic extract, Yield, bacteria, Antibacterial activity, antibiotic resistance profile, comparative study

الملخص

مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية هي السبب الرئيسي لعدم نجاح العلاج في الأمراض المعدية. وبالتالي، أصبحت الاستراتيجيات البديلة لمكافحة الميكروبات أمرًا ضروريًا. على مدى سنوات عديدة، كانت النباتات الطبية هي المصدر الأفضل للجزيئات الجديدة البديلة المضادة للميكروبات. وبهذا، كانت دراستنا تهدف إلى دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الكحولية والأسيتونية، التي تم الحصول عليها بواسطة بروتوكولات مختلفة، من نبات طبي من صنف الأوريجان (زعر) المأخوذ من منطقة وادي السوف في جنوب الجزائر، على بكتيريا ممرضة تنتمي إلى الأجناس:

Staphylococcus; Enterobacteria; Pseudomonas.

كانت نسبة الاستخلاص الكحولي لمدة 72 ساعة (21.5%) أفضل من النسب الثلاثة الأخرى: الكحولي لمدة 24 ساعة والإيثانول والأسيتون، حيث سُجلت نسب (8.5%) و(10.5%) و(18.05%) على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المختلفة باستخدام طريقة الأبار على وسط مربع. تم اختبار سلسلة من التركيز: (10 ملغ / 100 ميكرو لتر) و (0.5 ملغ / 100 ميكرو لتر) و (0.250 ملغ / 100 ميكرو لتر) و (0.125 ملغ / 100 ميكرو لتر) على السلالات المختلفة. أظهرت النتائج الحصول على نشاط ممتاز وجيد جدًا وجيد للمستخلصات الأربعة مع نطاقات أقطار (أكبر من 20 ملم) و (أكبر من 15 وأقل من 20 ملم) و (أكبر من 10 وأقل من 15 ملم) على التوالي مقابل *Staphylococcus* وعلاوة على ذلك، تم الحصول على نشاط ممتاز فقط مع المحلول الأم للمستخلصين الكحوليين والمستخلص الإيثانولي مقابل *Enterobacteria; Pseudomonas*، ونشاط ضعيف جدًا للمستخلص الأسيتوني مقابل *Enterobacteria* بأقطار (أكبر من 06 وأقل من 10 ملم).

دراسة تأثير عامل زمن التخمير أظهرت أن نسبة الاستخلاص الكحولي لمدة 72 ساعة (21.5%) كانت أفضل من نسبة الاستخلاص الكحولي لمدة 24 ساعة التي تم تسجيلها (8.5%). وعلى الجانب الآخر، كان النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الكحولي لمدة 24 ساعة أفضل من النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الكحولي لمدة 72 ساعة مع السلالات الثلاثة من البكتيريا التي تم اختبارها. أما بالنسبة لدراسة المقارنة للنشاط المضاد للبكتيريا بين المستخلصات المختلفة والمضادات الحيوية المختبرة، فقد تم تسجيل نشاط ممتاز وجيد جدًا وجيد لجميع ملامح المقاومة باستثناء المستخلص الأسيتوني الذي سجل نشاطًا ضعيفًا مقابل *Enterobacteria*. يمكن أن تكون المستخلصات الكحولية والأسيتونية من نباتنا من صنف الزعر مصادر مشجعة للمركبات الحيوية المثبطة للبكتيريا من ثلاثة سلالات مع ملامح مقاومة مختلفة للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: الزعر، المستخلصات الكحولية، مستخلص الأسيتون، المحصول، البكتيريا، النشاط المضاد للبكتيريا، خصائص مقاومة المضادات الحيوية، دراسة مقارنة.

Liste des tableaux

N°	Titre	Pages
01	Différentes pathogènes et étiologies bactériennes humaines	06
02	Classification des antibiotiques	09
03	Mode d'action des antibiotiques	11
04	Bactéries collectés à partir de la pathologie infectieuse humaine	26
05	Différentes molécules d'antibiotiques utilisés pour chaque souche testée	28
06	Table d'interprétation des diamètres des zones d'inhibition enregistrée avec des différents antibiotiques	38
07	Caractères organoleptique de Différents extraits (Méthanolique, Ethanolique, Acétonique)	42
08	Diamètres des zone d'inhibition enregistre avec les antibiotique testes sur les souches genre Staphylococcus (S ; aureus et s. Epidermidis) (Antibiogramme)	62
09	Diamètres des zone d'inhibition enregistre avec les antibiotique testessur les souches genre Entérobactéries (Antibiogramme)	63
10	Diamètres des zone d'inhibition enregistre avec les antibiotique testes sur les souches genre Pseudomonas (Antibiogramme)	65
11	Profils de sensibilité aux antibiotiques observés avec les souches testées	67

Liste des figures

N°	Titres	Page
01	Chronologie de découverte des antibiotiques	08
02	Cibles de l'action des antibiotiques	12
03	Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques	14
04	Composants des plantes médicinales	19
05	Extraits d'organes végétaux, à savoir les racines, l'écorce, les bulbes, les feuilles, les fleurs et les graines, peuvent contenir des composés photochimiques distinctifs aux propriétés antimicrobiennes	21
06	Localisation de la région d'Ouad Souf lieu de la collecte de la plante.	24
07	Plante d'Origanum	25
08	Souches microbiennes testées	26
09	Milieux de cultures utilisés (01 : milieu Hektoën, 02 : milieu Chapman, 03 : milieu MH, 04 : milieu Gélose Nutritive)	27
10	Disques Antibiotiques appliqués	28
11	Evaporateur rotatif	29
12	Conservation des souches	30
13	Extraction par solvant Organique de la partie aérienne de la plante d'Origanum (feuilles)	31
14	Récupération des souches bactériennes (méthode de repiquage)	33
15	Solution mère et des différentes dilutions	33
16	Différentes étapes de la technique de puits	35
17	Différentes étapes d'Antibiogramme	37
18	Résultats de l'extraction de différents solvants	40
19	<i>Staphylococcus (aureus et Epidermidis)</i>	43
20	<i>Entérobactéries « E. Coli »</i>	43
21	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
22	Présentation graphique de l'activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique vis- à-vis les souches testée	47
23	Activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique vis- à-vis les souches testée	47
24	Présentation graphique de l'activité antibactérienne de l'extrait Ethanolique vis- à-vis les souches testée	49
25	Activité antibactérienne de l'extrait Ethanolique vis- à-vis les souches testée	50
26	présentation graphique de l'activité antibactérienne de l'extrait Acétonique vis-à-vis les souches tes	52
27	Activité antibactérienne de l'extrait Acétonique vis- à-vis les souches testée	54
28	Présentation graphique de l'activité antibactérienne de suspension mérideseextraits (Ethanolique, Méthanolique, Acétonique) vis- à-vis les souches testée	53
29	Présentation graphique de l'activité antibactérienne de dilution 1/2 des extraits(Ethanolique, Méthanolique, Acétonique) vis- à-vis les souches testée	54

30	Présentation graphique de l'activité antibactérienne de dilution 1/4 des extraits(Ethanolique, Méthanolique, Acétonique) vis- à-vis les souches testée	55
31	Présentation graphique de l'activité antibactérienne de dilution 1/8 des extraits(Ethanolique, Méthanolique, Acétonique) vis- à-vis les souches testée	55
32	Présentation graphique de l'activité antibactérienne de l'extraitMéthanolique de 72h vis- à-vis les souches testée	58
33	Activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique de 72h vis- à-vis les souches testée	58
34	Présentation graphique de comparaison de l'activité antibactérienne de la suspension mère des extraits Méthanolique 24h et 72h vis- à-vis les souches testée	59
35	Présentation graphique de comparaison de l'activité antibactérienne de dilution 1/2 des extraits Méthanolique 24h et 72h vis- à-vis les souches testée	60
36	Présentation graphique de comparaison de l'activité antibactérienne de dilution 1/4 des extraits Méthanolique 24h et 72h vis- à-vis les souches testée	60
37	Présentation graphique de comparaison de l'activité antibactérienne de dilution 1/8 des extraits Méthanolique 24h et 72h vis- à-vis les souches testée	61
38	Présentation graphique de l'activité antibactérienne des Antibiotiques vis-à-vis les <i>Staphylococcus (aureus et Epidermidis)</i>	62
39	Activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-vis les <i>Staphylococcus(aureus et Epidermidis)</i>	63
40	Présentation graphique de l'activité antibactérienne des Antibiotiques vis-à-vis les <i>Entérobactéries</i>	64
41	Activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-vis les <i>Entérobactéries</i>	64
42	Présentation graphique de l'activité antibactérienne des Antibiotiques vis-à-vis les <i>Pseudomonas</i>	65
43	Résultats des <i>Pseudomonas. aeruginosa</i> de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme)	66

Table des matières

Remercîment

Dédicace

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des tableaux

Liste des figures

Table des matières

Liste des abréviations

Introduction.....18.

Partie I : Synthèse Bibliographique

Chapitre I: Pathologie infectieuse bactérienne et Antibiothérapie

I. Pathologie infectieuse bactériennes humaine.....	22
I.1. Infection urinaire.....	23
I.2. Infection cutanée.....	23
I.3. Infection respiratoire.....	23
I.4. Infection gastro-intestinale.....	23
I.5. Infections sexuellement transmissibles.....	23
I.6. Infections systémiques.....	24
II. Antibiothérapie en pathologie infectieuse humaine.....	26
II.1. Classes et mode d'action d'Antibiotique.....	26
II.1.1. Classification des antibiotiques.....	27
II.1.2. Mode d'Action des Antibiotique.....	31
II.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	32
II.2.1. Mécanisme de résistance de bactérie aux Antibiotiques.....	32
II.2.1.1. Résistance naturelle ou résistance intrinsèque.....	32
II.2.1.2. Résistance acquise.....	32
II.2.1.3. Multi-résistance.....	32

Chapitre 02 : Alternatives d'origine végétale

I. Définition des molécules alternatives.....	36
I.1. Les molécules alternatives d'origine végétale.....	37
I.2. Les molécules alternatives d'origine animale.....	37
II. Les plantes médicinales.....	38
III. Les huiles essentielles.....	39
VI. Les extraits par solvant organique.....	39
Processus d'extraction.....	39
Composés actifs.....	39
Utilisations.....	39
Techniques d'extraction.....	39
Contrôle de la qualité.....	39

Partie II Expérimental

I. MATÉRIEL ET METHODES.....	41
I.1. Cadre et objectifs de l'étude.....	41
I.1.1. Cadre de l'étude.....	41
I.1.2. Objectif de l'étude (rappel).....	41
I.2. Matériel.....	42
I.2.1. Matériel biologique.....	42
I.2.1.1 Matériel végétale.....	42
Présentation de la plante.....	42
Classification d' <i>Organum</i>	43
I.2.1.2. Souches bactériennes.....	43
I.2.2. Matériel de laboratoire.....	44
I.2.2.1. Milieux de cultures.....	44
I.2.2.2 Solvants organiques.....	45
I.2.2.3 Disques d'antibiotiques.....	45
I.2.2.4. Appareillage.....	46
I.2.2.5. Verreries et petit consommable.....	47
I.3. Méthodes.....	47
I.3.1. Conservation des souches.....	48

I.3.2.Extraction des substances bioactive de la partie aérienne du plant Genre <i>Origanum</i> (feuilles).....	48
I.3.3.Calcul du rendement de l'extraction par différent solvant organique..	49
I.3.4.Etude de l'activité antibactérienne des différents extraits selon La technique des puits.....	49
I.3.4.1.Récupération des souches conservées.....	50
I.3.5.2.Récupération des souches (protocole de repiquage).....	50
I.3.4.3. Préparation de la solution mère et des différentes dilutions.....	51
Aromatogramme par la méthode des puits.....	51
I.4. Étude de l'activité antibactérienne des différents antibiotiques testés..	53
I.5. Interprétation des résultats de l'antibiogramme des différentes Souches testés.....	55

Partie III : Résultats

I. Résultats.....	56
I.1. Aspect macroscopique de différents extraits.....	57
I.2. Extraction par solvant organique.....	59
I.2.1. Calcul du rendement de l'extrait de solvant organique.....	60
I.2.1.1. Rendement de l'extrait Acétonique.....	61
I.2.1.2.Rendement de l'extrait Méthanolique 24h.....	61
I.2.1.3.Rendement de l'extrait Méthanolique 72h.....	61
I.2.1.4. Rendement de l'extrait Ethanolique.....	62
I.2.1.5.Récupération des souches bactériennes.....	63
Activités antibactériennes observées avec des différents extraits.....	64
Activité antibactérienne observée avec l'extrait Méthanolique.....	64
Activités antibactériennes observées avec l'extrait Ethanolique.....	64
Activités antibactériennes observées avec l'extrait Acétonique.....	64
I.3.2. Catégories de l'activité antibactérienne observée avec les suspensions mères et Les différentes dilutions des extraits	65
I.4. Etude de l'impact de la durée de macération sur L'activité Antibactérienne	67

I.5. Catégories de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme).....	71
I.5.1. Activité antibactérienne des antibiotiques visé à vis les Staphylocoques (Antibiogramme).....	72
I.5.2. Activité antibactérienne des antibiotiques visé à vis les Entérobactéries (Antibiogramme).....	73
I.5.3. Activité antibactérienne des antibiotiques visé à vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Antibiogramme).....	74
I.6. Détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques.....	75

Partie VI : Discussion

Conclusion et perspective.....	80
Références Bibliographiques.....	82
Annexe.....	88

Liste des abréviations:

PIB: pathologie infectieuse bactérienne

HE: Huile essentiels

IST: d'une infection sexuellement transmissible

MH : Milieu de Mueller Hinton

MO : Microorganisme

PA: Pseudomonas aeruginosa **SA:** Staphylococcus aureus

DMSO: Diméthylsulfoxyde **E.coli:** Escherichia coli

EB: Entérobactéries

SE: Staphylococcus Epidermidis

RAM: résistance aux antimicrobiens

RBA: résistance bactérienne aux antibiotiques

MDR: La multi résistance aux médicaments

GN: Gélose nutritive

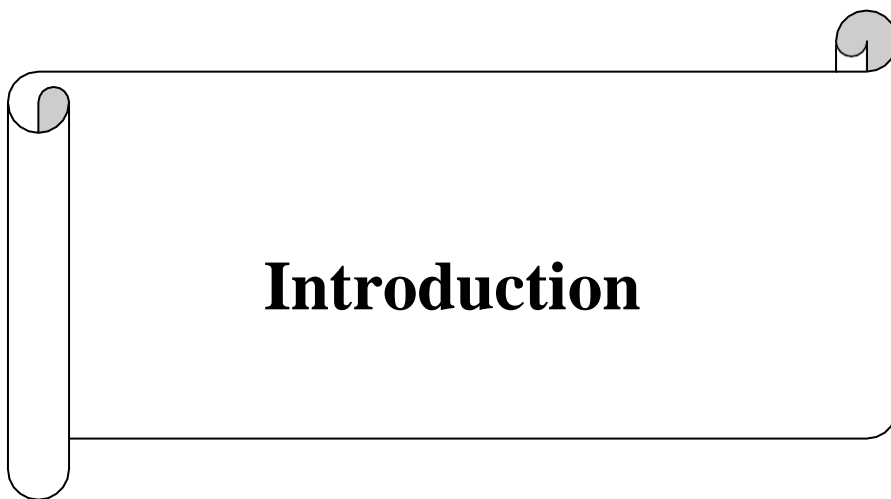
CDC: Le Centre de contrôle des maladies infectieuses

OMS: l'organisation mondiale de la santé

BLSE: Bêta-lactamase à spectre étendu

AP: antiprolifératif

ATB : Antibiotique



Introduction

Les maladies infectieuses demeurent une menace mondiale pour la santé. Certaines sont endémiques dans de nombreuses régions, entraînant des charges importantes et constantes. D'autres se propagent à l'échelle mondiale, causant la mort de millions de personnes (**Baker et al., 2021**). De plus, la récurrence des infections émergentes à capacité d'expansion rapide constitue un problème de grand ampleur pour l'être humain (**Collignon et al., 2018 ; Bloom et Cadarette, 2019**).

L'augmentation de la résistance aux antimicrobiens et la première cause d'échec thérapeutique dans le domaine des maladies infectieuses, avec une propagation mondiale rapide, ce qui constitue une grave menace pour la santé publique dans le monde (**Bloom et Cadarette, 2019 ; Mancuso et al 2021**). Plusieurs mécanismes sont utilisés par les bactéries pour résister aux antibiotiques : **(i)** réduction de l'absorption bactérienne de l'antibiotique; **(ii)** la production d'enzymes hydrolytiques, telles que les -lactamases, qui inactivent le médicament antimicrobien ; **(iii)** la modification de l'antimicrobien récepteur de drogue; **(iv)** réduction de la concentration de médicament antimicrobien dans l'environnement intracellulaire par les pompes à efflux présentes dans les membranes bactériennes; **(v)** modification de la voie enzymatique, conduisant à une diminution de la sensibilité bactérienne à l'antibiotique (**Leski , and Tomasz, 2005; Piddock, 2006; Rouveix, 2007; Stavri et al., 2007**). En conséquence le développement de médicaments efficaces et devenu urgent ; mais malheureusement, il s'agit d'un processus lent (**Ventola, 2015 ; WHO, 2018**). Le Centre de contrôle des maladies infectieuse (**CDC**) et l'organisation mondiale de la santé (**OMS**) ont publié une liste d'agents pathogènes bactériens prioritaire qui suscite la recherche et le développement de nouveaux agents anti-infectieux, mais la situation ne cesse de s'aggraver (**Ventola, 2015**). Il est absolument essentiel de développer des stratégies antimicrobiennes alternatives, afin de lutter contre ce grave problème auquel la société est confrontée aujourd'hui à savoir : **(i)** thérapie phagique ; **(ii)** thérapie à la lysine ; **(iii)** les bactériocines et les peptides antimicrobiens (**Hanlon, 2007 ; Almeida et al., 2009**). De plus Les origines naturelles ont été pendant de nombreuses années la meilleure source de nouvelles molécules antimicrobiennes (**Souza et al, 2016**). Les métabolites primaires et secondaires synthétisés par les animaux les micro-organismes

et ainsi que les végétaux, , ont influencé le développement de traitements pour un éventail de maladies et de problèmes de santé, y compris les maladies infectieuses, les processus inflammatoires et le cancer (Dejani et al,2021, Omokhefe Bruce 2022). Les plantes sont une source naturelle et riche d'agents biologiquement actifs prometteurs. Les propriétés antibactériennes naturelles des plantes sont connues depuis des siècles ;, ils sont reconnus comme prometteurs contre les bactéries résistantes aux antibiotiques(Nj et al2021). Dans ce sens et pour contribuer dans la lutte contre les maladies infectieuses causées par des bactéries pathogènes, notre travail a eu pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits bioactifs alcooliques et Acétonique d'une plante médicinale du genre *Origanum* (Nom commun: Zaatar) sur une gamme de Bactéries pathogène collectés a partir de différents pathologies infectieuses .Ce qui a incité à mener une étude portant principalement sur:

- ❖ Évaluation du rendement d'extraction des substances bioactives a partir de la partie aérienne(Feuilles) par macération avec les différents solvants alcoolique et Acétonique d'une plante médicinale *Origanum*.
- ❖ Appréciation de l'activité antibactérienne des différents extraits par méthode de diffusion
- ❖ Étude de l'impact des protocoles d'extraction sur le rendement d'extraction ainsi que sur l'activité antibactérienne.
- ❖ Étude de l'activité antibactérienne des différentes molécules conventionnelles synthétiques (Antibiotique) sur les mêmes souches bactériennes et détermination de profile de sensibilité aux ATB.
- ❖ Évaluation comparative de l'activité antibactérienne des extraits bio-actifs par rapport aux antibiotiques.

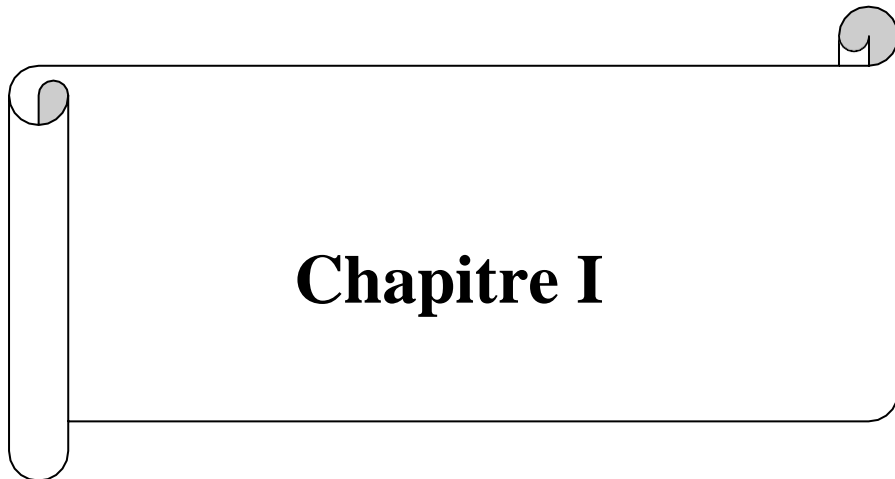
Notre travail a été organisé comme suivant:

- ❖ Dans la première partie de ce mémoire, nous avons présenté une synthèse bibliographique en Deux chapitres. Le premier chapitre présente une généralité sur les pathologies infectieuses et l'antibiothérapie; le second chapitre en globe quelques notions, sur les sources des molécules bioactives d'origine végétale.

- ❖ La deuxième partie est la partie expérimentale qui comporte les tests et protocoles utilisés pour atteindre les objectifs de notre travail ; les résultats obtenus suivi d'une discussion et enfin une conclusion et perspectives des travaux.



**Synthèse
Bibliographique**



Les maladies infectieuses sont une des causes les plus importantes de morbidité chez l'homme et l'animal avec des conséquences à la fois économiques, sanitaires et écologiques (Cleaveland 2001).

Sont représentent la cause majeure de mortalité dans le monde, ce sont des affections provoquées par la pénétration et le développement, Des microorganismes pathogènes telles quelles virus, les parasites, les champignons ou les bactéries pouvant provoquer des lésions en se multipliant, et éventuellement en sécrétant des toxines ou en se propageant par voie sanguine (Alwashetal., 2013; Ziti-freville., 2019).

I.Pathologie infectieuse bactériennes humaine

La pathologie infectieuse bactérienne (PIB) concerne les maladies causées par des infections provoquées par des bactéries pathogènes chez l'humain (Cleaveland 2001) Il existe de nombreuses espèces bactériennes pathogènes qui peuvent causer des maladies chez l'homme .Parmi les exemples courants, on trouve *Escherichia coli* qui responsable de l'infection urinaire, *Salmonella* qui responsable de l'infection gastro-intestinales, *Staphylococcus aureus* qui responsable de l'infection cutanée, *Streptococcus pneumonie* qui responsable de l'infection respiratoire, etc. (Chen et al .,2013 ;Murray et al.,2021). (Tableau 01).

I.1. L'infection urinaire : est une infection causée par des bactéries ou d'autres microorganismes. Sont plus fréquentes chez les femmes que chez les hommes. Le traitement implique généralement des antibiotiques pour éliminer les bactéries responsables de l'infection (Nauciel et Vildé, 2005).

I.2. Infection cutanée : est une infection qui affecte la peau. Elle peut être causée par des *Staphylococcus*. Les infections cutanées peuvent se présenter sous différentes formes, telles que des plaies infectées, des furoncles, des impétigos, des infections fongiques comme le pied d'athlète, ou encore des infections virales comme l'herpès (Meunier, L et al., 2015).

I.3. Infection respiratoire : est une infection qui affecte le système respiratoire, comprenant les voies respiratoires supérieures (nez, gorge, sinus) et/ou les voies respiratoires inférieures (bronches, poumons). Ces infections peuvent être causées par des virus, des bactéries ou d'autres agents infectieux « *Streptococcus pneumonie* » (Rahani, j et al., 2022)

I.4. Infection gastro-intestinale : est une inflammation de l'estomac et de l'intestin due à une infection. Cela se produit généralement en raison de l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés par des virus, des bactéries (*Salmonella*) ou des parasites (**Napoca C, 2012**)

I.5. Infections sexuellement transmissibles : Les infections sexuellement transmissibles (**IST**) sont des infections causées par *Neisseria*, gonorrhée, etc. Qui se transmettent principalement par le biais de rapports sexuels non protégés. Certaines IST peuvent également se propager par le contact avec le sang infecté, par exemple lors du partage d'aiguilles contaminées (**La Ruche et al., 2013**).

I.6. Infections systémiques : sont des infections qui se propagent dans tout le corps, affectant plusieurs systèmes et organes. Contrairement aux infections localisées qui restent confinées à une partie spécifique du corps, les infections systémiques se propagent par le sang ou le système lymphatique, atteignant divers organes et tissus causée par *Escherichia coli*, *Klebsiella*, pneumonie, *Pseudomonas*, etc. (**Fitzpatrick TB, et al., 1987**)

Tableau 01. Différentes pathogènes et etiologie bactérienne humaines (Lipsky, B. A.,1989 ; Drieux, L., 2010 ; Burnand, B et al., 2013)

Type d'infection	Agents pathogènes Responsables	Symptômes	Traitement
Infection urinaire	<i>E. coli</i> <i>Entérobactéries</i> <i>Staphylocoques</i> <i>Pseudomonas</i>	forte fièvre frissons Les douleurs dans le bas du dos Vomissements	afosfomycine (traitement monodose) le pivmécillinam, (bêta-lactamine)
Infections respiratoires	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Hémophiles influenzae</i> <i>Mycoplasme pneumoniae</i>	forte fièvre Une infection liée au virus de la grippe douleur thoracique	L'oseltamivir La ribavirine Le palivizumab Le nirmatrelvir
Infections cutanées	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus Epidermidis</i> <i>Entérobactéries (E.coli, Klebsiella et des Entérobactérie) et des Pseudomonas.</i>	Rougeur de la peau Gonflement Douleur ou sensibilité Formation de pustules Démangeaisons Ecoulement de liquide Ulcères lésion ouverts	Amoxicilline : Amoxicilline-acide clavulanique Benzathine-benzyl-pénicilline G (retard) Pénicilline V (phénoxyéthylpénicilline) Clindamycine
Infections gastro-intestinales	la salmonellose, la campylobactériose la shigellose <i>Escherichia coli entérohémorragique</i>	douleurs vomissements diarrhées Malaise général Déshydratation	Réhydratation Médicaments Symptomatiques Antibiotiques Antiparasitaires ou antifongiques

Infections sexuellement transmissibles	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (responsable de la gonorrhée) <i>Treponema pallidum</i> (responsable de la syphilis)	es pertes vaginales ou urétrales anormales, des brûlures, douleurs abdominales, des saignements entre les règles	à ceftriaxone ou la cefiximela pénicilline G la cryothérapie
Infections systémiques	Staphylococcus aureus Streptococcus pneumoniae Escherichia coli Klebsiella pneumoniae Pseudomonas aeruginosa	fièvre, faiblesse générale, des frissons, augmentation du rythme cardiaque, une respiration rapide, une confusion mentale	Pénicillines Céphalosporines Fluoroquinolones Macrolides Carbapénèmes

II. Antibiothérapie en pathologie infectieuse humaine

La résistance bactérienne aux antibiotiques (**RBA**) était déjà connue il y a plus de 50 ans depuis lors, à la fin des années 1950, la plupart des isolats de *S. aureus* avaient développé une résistance à la pénicilline qui, dans le passé, était généralement utilisée pour les traiter (**Stapleton, P. D & Taylor, P. W., 2002**)

Cependant, pendant longtemps, la résistance aux antibiotiques n'a pas été une préoccupation sérieuse dans le monde, car de nouvelles classes de médicaments ont été développées dans les années 1960, comme la vancomycine et la Méthicilline, indiquant que le problème de la résistance pouvait être facilement résolu par la synthèse de nouvelles molécules. (**McGuinness, W. A et al., 2017**). Malheureusement, au cours des décennies suivantes, les bactéries ont développé de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques différents qui les ont protégées des effets de ces médicaments, et ainsi la résistance aux antibiotiques est passée (**Aslam, B et al., 2018**).

II.1. Classes et mode d'action d'Antibiotique

De 1940 à 2005, on a assisté à la découverte et à la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques dont la chronologie est présentée par la (**Figure 01**).

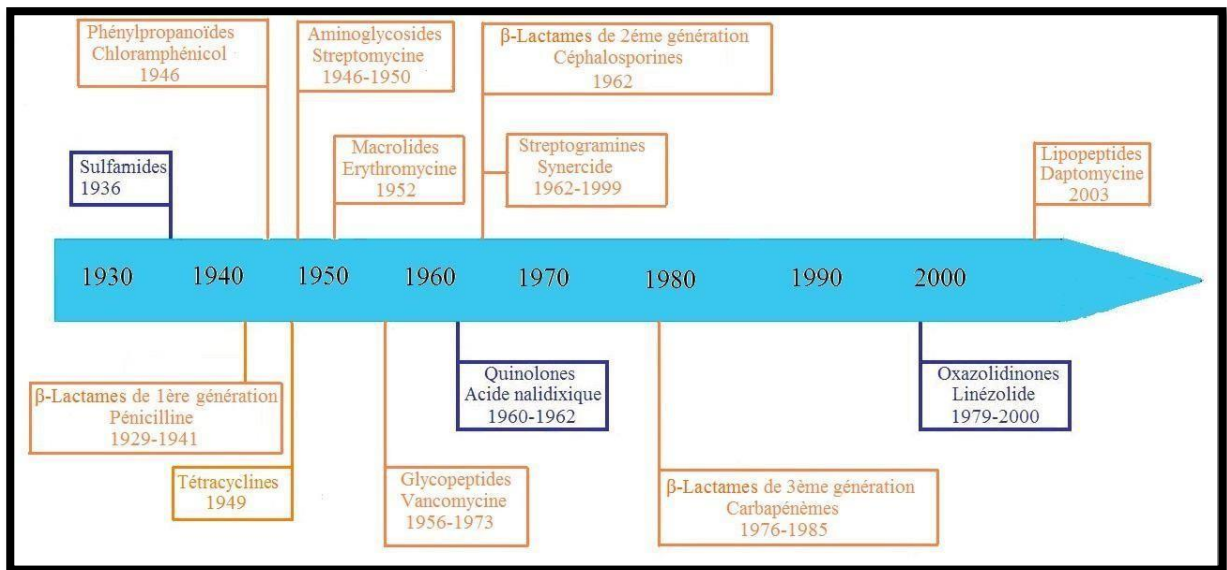


Figure 01. Chronologie de découverte des antibiotiques (Skali.,2016)

Les différents antibiotiques exploités en médecine thérapeutique peuvent être classés par famille chimique et par leurs modes d'action. Les cibles décrites jusqu'à présent sont la paroi, la membrane, l'acide nucléique et les ribosomes des micro-organismes (Skali., 2016).

II.1.1. Classification des antibiotiques (Tableau 02)

Antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères :

- ❖ Leur origine (bio-synthétisés par des champignons, des bacilles ou des Streptomyces, artificiels).
- ❖ Le type de leur activité antibactérienne. Leur structure chimique (dérivés d'acides aminés, hétérosidiques ou polycycliques) (Dembele., 2020).

A. Classification selon l'origine

On distingue trois grands groupes d'antibiotiques :

A. Les antibiotiques naturels, élaborés par les micro-organismes :

- ✓ Des champignons inférieurs : *Penicillium*, *Cephalosporium*.
- ✓ Des bactéries : *Bacillus* et surtout *Streptomyces* (90% des antibiotiques sont produits par des *Streptomyces*).

B. Les antibiotiques hémi synthétiques ou de ½ synthèse : ils résultent de la

transformation chimique des composés naturels.

- ❖ Les antibiotiques artificiels : obtenus par synthèse chimique (**Dembele., 2020**).

B. Classification des antibiotiques en fonction de leur spectre d'activité

Le spectre d'activité d'un anti-infectieux correspond à l'ensemble des espèces bactériennes qui lui sont sensibles. Lorsque le spectre d'activité est limité à un certain nombre d'espèces bactériennes, il est dit « étroit », tandis qu'un antibiotique actif sur de nombreuses bactéries est dit à spectre « large » (Dembele., 2020).

Tableau 02. Classification des antibiotiques (Dembélé., 2020)

Famille	Sous famille	Origine	Molécule(s)
Bêtalactamine	Pénicilline	Naturelle	Pénicilline G
		Semi- synthétique	Oxacilline et cloxacilline(Groupe M)
			Ampicilline et amoxicilline(Groupe A)
	Céphalosporines	Naturelle ousemi-synthétique	Céfalotine; céfalexine (1er génération)
			Cefalonium (2eme génération)
			Cefoperazome, ceftiofur (3eme génération)
			Cefquinome(génération)
Polypeptides		Naturelle	Colistine
			Bacitracine
Aminoside		Naturelle ousemi-synthétique	Streptomycine,kanamycine, apramycine gentamicine, néomycine, Streptomycine

Macrolide		Naturelle ou semi-synthétique	Erythromycine, spiramycine, tylostine, Tilmicosine
Apparentés aux macrolides	Lincosamides	Naturelle ou semi-synthétique	Lincomycine, clindamycine
Tétracycline		Naturelle ou semi-synthétique	Chlorotétracycline, Oxy tétracycline, Doxycycline
Phénicolés		Naturelle ou semi-synthétique	Florfénicol, chloramphénicol et Thiamphenicol
Sulfamides		Synthétique	Sulfaguanidine, sulfadimidine, sulfadiméthoxine
Quinolones		Synthétique	Acide nalidixique et Oxolinique (1 ^{er} génération)
			Fluméquine (2 ^{ème} génération)
			Enro-dano- marbodifloxacine (3 ^{ème} génération)

II.1.2. Mode d'Action des Antibiotique

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 (Bruyère., 2008) (tableau 03).

Tableau 03. Mode d'action des antibiotiques.

Groupes antibiotique	Mécanisme d'action	Mécanisme de résistance
β-Lactamine Pénicillines Céphalosporines Carbapénèmes	Inhibe la production de la paroi cellulaire.	Production de bêta-lactames Céphalosporines Carbapénèmes
Inhibiteurs de la β-lactamase	Bloquer l'activité des enzymes bêta-lactamases	Bêta-lactamase à spectreétendu (BLSE)
Aminoglycosides, Chloramphénicol Macrolides, Tétracyclines	Inhibe l'assemblage des ribosomes en se liant aux bactéries 30S ou 50S (inhibe la synthèse des protéines)	Multifactoriel (modification enzymatique, modification du site cible et pompes d'efflux)
Fluoroquinolone	Inhiber la réplication de l'ADN	Multifactoriel (mutations géniques au site cible, efflux(pompes et enzyme modifcatrice)
Sulfamides et triméthoprime	Inhiber le métabolisme de l'acide folique	Propagation horizontale des gènes de résistance, médiatisée par des transposons et des plasmides, exprimant des variantes insensibles aux médicaments des enzymes cibles.

Le mode d'action des antibiotiques est, soit bactériostatique empêchant le développement microbien (**mode d'action des tétracyclines, Phénicols, macrolides**), soit bactéricide détruisant les germes (**les bêta lactamine, les aminosides, Les polypeptides**).

Leur mécanisme d'action varie d'un antibiotique à un autre (**Figure 02**) (**Garnier, 1992 ; Khiati,1998**).

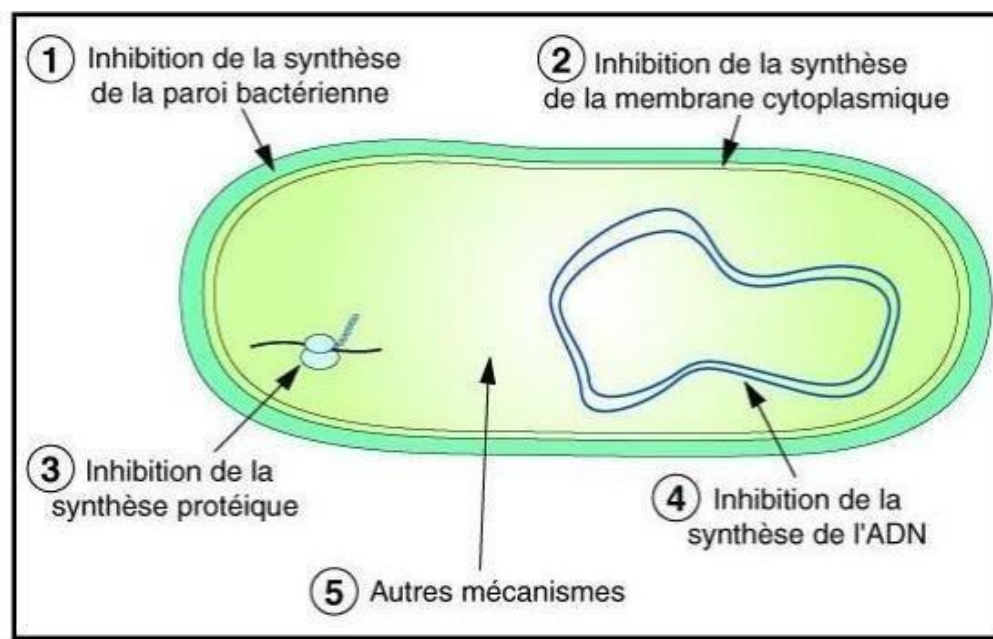


Figure 02. Cibles de l'action des antibiotiques (**Garnier,1992**).

II.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques

Une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. L'étude de la résistance bactérienne a permis de faire de grandes découvertes concernant l'organisation de l'information génétique des bactéries et le contrôle de son expression. Pour les thérapeutes, elle est aujourd'hui indispensable à connaître pour une meilleure utilisation des antibiotiques (**Boerlin et White, 2006 ; Patzer et al, 2008**).

La résistance aux antibiotiques est un phénomène universel, qui semble être plus aigu dans certains pays en voie de développement du fait de la monotonie des antibiotiques utilisables. Dans les pays industrialisés, le même phénomène peut être décrit du fait de la pression sélective dans un hôpital donné, ceci a été bien démontré avec l'usage intensif en monothérapie (**Bryskier, 1999**).

II.2.1. Mécanisme de résistance de bactérie à l'Antibiotique

Une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. L'étude de la résistance bactérienne a permis de faire de grandes découvertes concernant l'organisation de l'information génétique des bactéries et le contrôle de son expression. Pour les thérapeutes, elle est aujourd'hui indispensable à connaître pour une meilleure utilisation des antibiotiques (**Boerlinet White.,2006 ; Patzeretal, 2008**).

La résistance aux antibiotiques est un phénomène universel, qui semble être plus aigu dans certains pays en voie de développement du fait de la monotonie des antibiotiques utilisables.

Dans les pays industrialisés, le même phénomène peut être décrit du fait de la pression sélective dans un hôpital donné, ceci a été bien démontré avec l'usage intensif en monothérapie (**Bryskier., 1999**).

A. Résistance naturelle ou résistance intrinsèque

La résistance intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne et partagée partoutes les souches de cette espèce. Elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce (**Faure, 2009**).

B. Résistance acquise

Elle est présente seulement chez certaines souches de l'espèce. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou d'une acquisition de matériel génétique étranger (**Faure, 2009**).

C. Multi- résistance

Il s'agit d'une terminologie très couramment utilisée même si elle ne répond pas à une définition univoque. Il est d'usage de parler de multi résistance pour « une bactérie qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique ou pour une bactérie sensible à moins de trois familles d'antibiotiques». Ce terme s'emploie généralement pour une bactérie qui pose en général un problème de ressource thérapeutique (**Fajardo et al, 2009**).(Figure03).

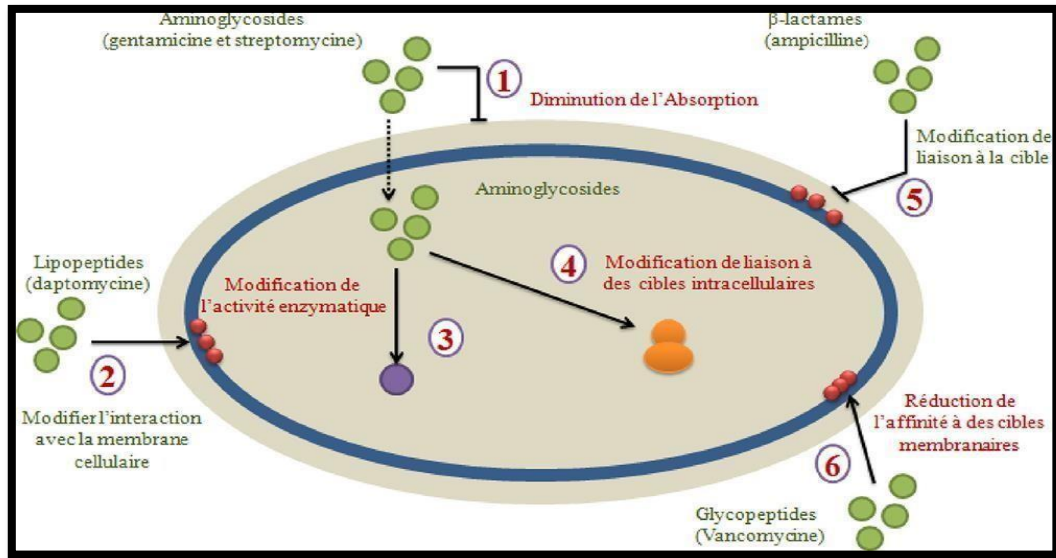


Figure 03. Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques (Bouyahya et al.,2017)

Les bactéries peuvent développer plusieurs mécanismes de résistance aux antibiotiques, ce qui rend les traitements antibiotiques moins efficaces.

Modification de la cible : Les bactéries peuvent altérer les cibles moléculaires des antibiotiques. Par exemple, elles peuvent modifier les protéines cibles des antibiotiques, telles que les enzymes impliquées dans la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne ou les ribosomes impliqués dans la synthèse des protéines. Ces modifications empêchent l'antibiotique de se lier efficacement à sa cible, réduisant ainsi son efficacité (Mangin, L.(2016)

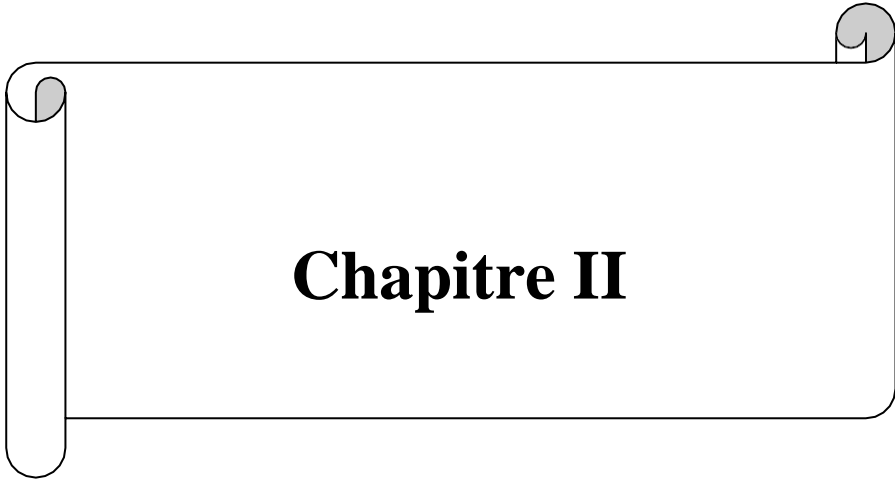
Production d'enzymes de dégradation : Certains micro-organismes (MO) produisent des enzymes capables de dégrader les antibiotiques. Par exemple, les bêta- lactamases sont des enzymes produites par certaines bactéries qui dégradent les antibiotiques de la classe des bêta-lactamine, tels que les pénicillines et les céphalosporines. Cela rend les antibiotiques inefficaces contre ces bactéries (Mangin, L., 2016).

Efflux actif : Les bactéries peuvent développer des pompes d'efflux qui expulsent activement les antibiotiques hors de leurs cellules. Ces pompes permettent aux bactéries de maintenir des concentrations intracellulaires d'antibiotiques suffisamment faibles pour éviter leur action antimicrobienne (Mangin, L., 2016).

Modification enzymatique : Certaines bactéries sont capables de modifier chimiquement les antibiotiques à l'aide d'enzymes spécifiques. Ces modifications rendent les antibiotiques inactifs ou moins actifs contre les bactéries cibles (Mangin, L., 2016).

Acquisition de gènes de résistance : Les bactéries peuvent acquérir des gènes de résistance par le biais de mécanismes tels que la mutation génétique ou le transfert horizontal de gènes. Ces gènes de résistance peuvent coder pour des enzymes de dégradation, des pompes d'efflux ou des modifications de cibles, permettant aux bactéries de devenir résistantes à plusieurs classes d'antibiotiques. **(Mangin, L., 2016).**

Formation de biofilms : Les biofilms sont des communautés de bactéries qui se forment sur des surfaces et sont entourées d'une matrice protectrice. Les bactéries présentes dans un biofilm peuvent être plus résistantes aux antibiotiques que les bactéries en suspension individuelle, rendant le traitement plus difficile **(Mangin, L., 2016).**



Chapitre II

La situation alarmante de la résistance aux antimicrobiens a été reconnue par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), qui a qualifié la résistance aux antibiotiques comme l'une des trois menaces de santé publique les plus importantes du 21^e siècle (WHO, 2014).

Ainsi, pour vaincre la résistance microbienne, la recherche mondiale a déployé de nombreux efforts pour proposer de nouvelles molécules antimicrobiennes alternatives aux antibiotiques actuels afin de développer de nouveaux traitements. Les origines naturelles ont été pendant de nombreuses années la meilleure source de nouvelles molécules antimicrobiennes (Souza et al,2016). Les métabolites primaires et secondaires synthétisés par les animaux les micro-organismes et ainsi que les végétaux, ont influencé le développement de traitements pour un éventail de maladies et de problèmes de santé, y compris les maladies infectieuses, les processus inflammatoires et le cancer (Dejani et al, 2021, Omokhefe Bruce 2022).

Dans cette origine Il existe 7500 espèces de plantes médicinales connues. Parmi celles-ci, 4635 espèces sont commercialement utilisé à une assez grande échelle. Malgré de plus grands progrès dans les produits organiques synthétiques chimie du XX^e siècle, plus de 25 % des médicaments prescrits sont dérivés directement ou indirectement des plantes (Punjabi et al., 2014).

I. Définition des molécules Alternative

Les molécules alternative sont des métabolites tirée ou extraite d'une source naturelle biologique (animale ou végétale) et qui est biologiquement active ou ayant une activité pharmacologiques ou toxicologiques à des effets sur l'homme et l'animale (Bernhoft., 2010) sont de source naturelle biologique végétale ou animale, etc.

I.1. les molécules alternative d'origine végétale

Les plantes sont capables de produire un grand nombre de substances bioactives diverses Parmi les plantes intéressant son a les plantes herbacées qui peut être considérée comme la base de l'utilisation de molécules naturellement bioactives dépendant de la médecine traditionnelle comme soins de santé primaires, principalement grâce à l'utilisation de plantes lui-même et de leurs composés bioactifs (Fernandes et al.,2019).

Aussi les graines des légumineuses contiennent un grand nombre de composé qui sont qualifiés de composés bioactives avec des avantages potentiels importants pour la santé humaine. Ces composés varient considérablement dans leur biochimie et peuvent être des protéines, des glycosides, des tanins, des saponines, des alcaloïdes. (Muzquiz et al.,2012).

I.2. les molécules alternative d'origine animale

Les animaux sont de riche source de composés bioactifs qui présentent une variété de fonctions biologiques sur la santé humaine. Ces molécules bioactifs peuvent être soit essentielles à la vie des animaux, soit uniquement produites intégralement et plus important pour d'autres organismes (**Zhang WXA et al., 2015**).

Aussi des composé biologiquement actifs avec différents modes d'action, tels que antiprolifératif (**AP**), antioxydant, anti microtubule, ont été isolés à partir de sources marines, en particulier les algues et les cyanobactéries. Récemment, la recherche s'est concentrée sur les peptides provenant de sources animales marines, car ils ont été trouvés en tant que métabolites secondaires d'éponges d'ascidies, de tuniciers et de mollusques. Les caractéristiques structurales de ces peptides comprennent divers résidus d'acides aminés qui peuvent être responsable de leur bioactivité (**Suarez-jimenez et al., 2012**).

II. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales restent et resteront encore longtemps une source fiable de principes actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques parce qu'elle contiennent principes métabolites actifs on retrouve les composés phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les mucilages, les composés volatils, les stérols et les terpènes (**Yaya Alain et al., 2018**).

Ont été utilisées depuis l'Antiquité pour traiter et prévenir diverses affections. Des connaissances traditionnelles sur les plantes médicinales ont été transmises de génération en génération et ont contribué à l'élaboration de pratiques médicales traditionnelles, telles que la médecine traditionnelle chinoise, l'ayurveda, la médecine traditionnelle africaine, (**Debuigne G.,1974**).

Il existe une grande variété de plantes médicinales provenant de différentes régions du monde. Chaque plante a ses propres propriétés médicinales spécifiques et peut être utilisée pour traiter différents problèmes de santé. Parmi les exemples courants de plantes médicinales, on trouve la camomille, la menthe poivrée, le curcuma, l'aloès, l'échinacée, le ginseng, la valériane, le gingembre, (**Bruneton J.,1987**) Sont contiennent une multitude de composés chimiques actifs, tels que des flavonoïdes, des terpénoïdes, des alcaloïdes, des tanins, des saponines, etc. Ces composés peuvent avoir des propriétés anti-inflammatoires, anti oxydantes, antimicrobiennes, analgésiques, immun modulatrices et autres, qui contribuent à leurs effets thérapeutiques.

Elles peuvent être utilisées de différentes manières. Elles peuvent être préparées sous

Forme de tisanes, d'infusions, de décoctions, d'huiles essentielles, de teintures, de poudres ou être intégrées dans des compléments alimentaires. Certains extraits de plantes médicinales sont également utilisés dans la fabrication de médicaments pharmaceutiques. Les plantes médicinales font l'objet de nombreuses études scientifiques visant à évaluer leur efficacité, leur sécurité et leurs mécanismes d'action. La recherche moderne tente de comprendre les principes actifs des plantes, d'identifier de nouvelles substances potentiellement thérapeutiques et de valider les utilisations traditionnelles des plantes médicinales (Moreau B.,2003)

Bien que soient susceptibles d'avoir des effets bénéfiques sur la santé, il est important de prendre des précautions. Certains composés actifs peuvent avoir des effets indésirables ou interagir avec d'autres médicaments. Il est recommandé de consulter un professionnel de la santé qualifié avant d'utiliser des plantes médicinales, en particulier si vous avez des problèmes de santé préexistants ou si vous prenez d'autres médicaments (Borgeset al., 2017)(Figure04)

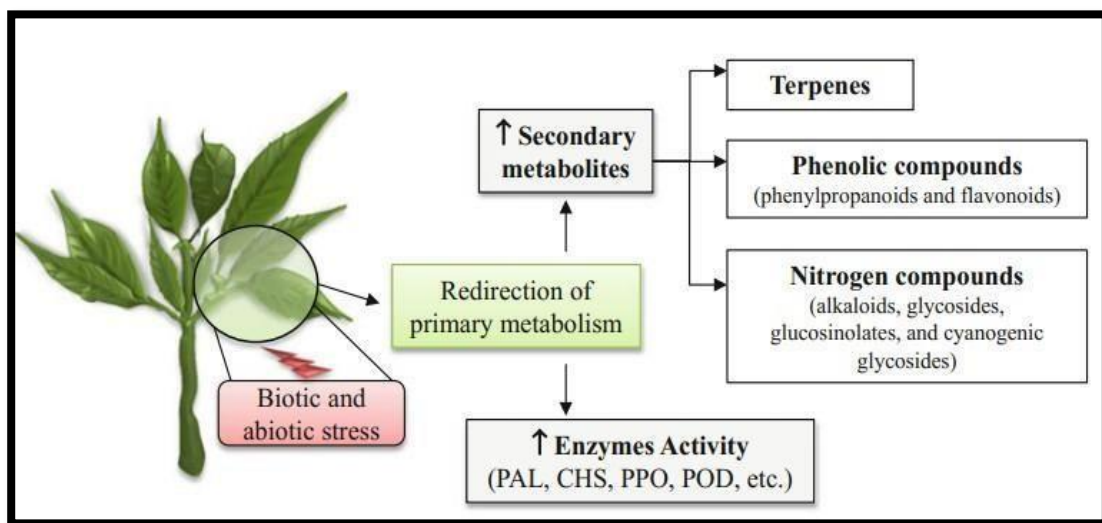


Figure 04. Composants des plantes médicinales (Borgeset al.,2017).

III. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont des substances huileuses, volatiles et odorantes, ce qui les différencie des huiles fixes. On peut les extraire de certaines plantes appelées pour cette raison aromatiques et couramment plantes à essence.

Le terme « huile », quant à lui, souligne le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances, le terme « essentielle » comme caractéristique principale de la plante à travers ses exhalations (Abrassart, J. L., 1988).

Selon Naves (**Chafaa, I., 2006**), Les huiles essentielles ne sont que des mélanges de divers produit d'une espèce végétale. Cette définition est restrictive car elle ne tient pas compte des produits obtenus par expression à froid du péricarpe ou zeste de fruit de citrus.

D'après la 8^e édition de la pharmacopée française en 1965, l'huile essentielle est définie comme étant un produit de composition généralement assez complexe des principes volatils contenus dans les végétaux. Depuis la 9^e édition en 1972, la pharmacopée n'utilise plus quel terme : **huile essentielle (HE)**.

Quant à la norme AFNOR NF T 75-006, elle la définit comme étant le produit obtenu, soit par entraînement à la vapeur d'eau de la matière première végétale, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe des citrus, soit par distillation à sec. Elle sera séparée par la suite de la phase aqueuse par des procédés physiques (**Bruneton, J., 1993**).

Les huiles essentielles occupent une place considérable sur le marché de la pharmacie des produits d'hygiène, de la parfumerie, de l'industrie cosmétique ainsi que de nombreux secteurs de l'agro-alimentaire.

Les huiles essentielles (**HE**) n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, presque toutes les familles des plantes participent à leur production, en particulier les *Labiées* qui en fournissent le plus (**Durvelle, J. P., 1893**). Elles se rencontrent dans toutes les parties de la plante : fleurs (bergamotier, tubéreuse...), mais aussi feuilles (citronnelle, Origanum, laurier...) et moins dans les écorces (cannelier), les bois (bois de rose, santal...), les racines (vétiver), les rhizomes (curcuma, gingembre...), les fruits (toutes-épices, anis...) (**Figure 05**)

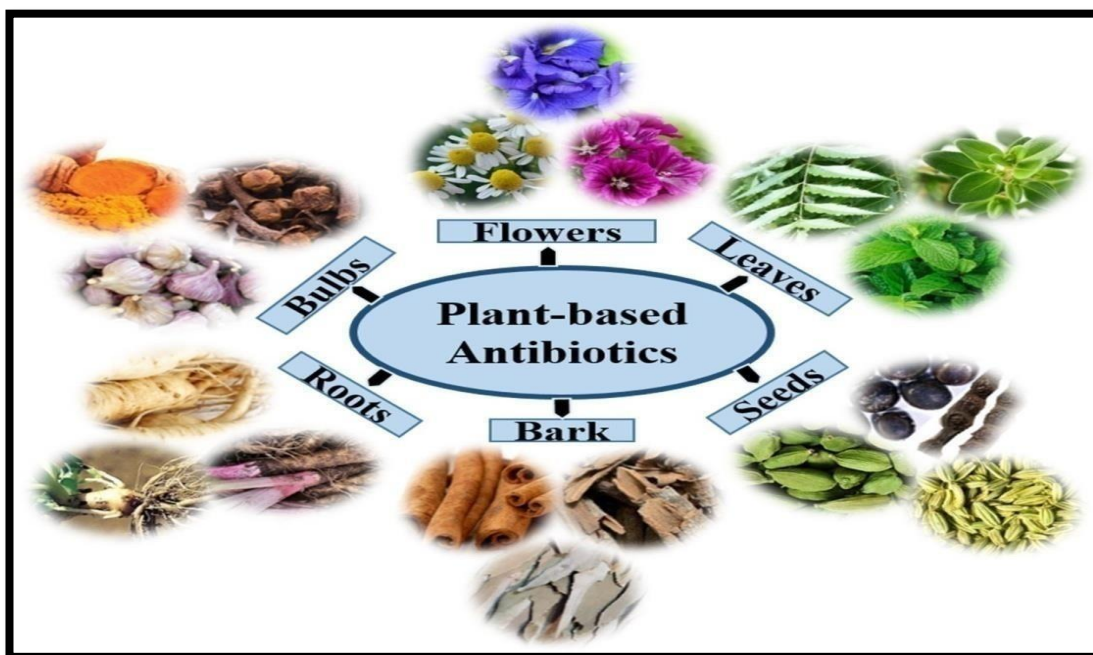


Figure 05. Extraits d'organes végétaux, à savoir les racines, l'écorce, les bulbes, les feuilles, les fleurs et les graines, peuvent contenir des composés photochimiques distinctifs aux propriétés antimicrobiennes (Eljounaidi.K et al.,2020)

VI. Les extraits par solvant organique

Les extraits solvaniques, également connus sous le nom d'extraits solvants, sont des extraits de plantes ou de substances naturelles obtenus en utilisant des solvants pour extraire les composés actifs des matières premières végétales. Voici quelques généralités sur les extraits solvaniques (Remmal et al, 1993 ; Dorman et Deans, 2000)

Processus d'extraction : Les extraits solvaniques sont obtenus en utilisant des solvants, tels que l'eau, l'alcool, l'éther, l'hexane, l'acétone, etc., pour dissoudre les composés actifs présents dans les plantes. Les solvants sont choisis en fonction de la nature des composés à extraire et de leur solubilité (Remmal et al, 1993 ; Dorman et Deans, 2000)

Composés actifs : Les extraits solvaniques peuvent contenir une variété de composés actifs présents dans les plantes, tels que des flavonoïdes, des terpénoïdes, des alcaloïdes, des phénols, des glycosides, etc. Ces composés peuvent avoir des propriétés pharmacologiques, antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, etc. (Remmal et al, 1993 ; Dorman et Deans, 2000)

Utilisations : Les extraits solvaniques sont utilisés dans divers domaines, notamment en médecine traditionnelle, en phytothérapie, en cosmétologie, en parfumerie, en alimentation et dans l'industrie pharmaceutique. Ils peuvent être utilisés pour leurs effets bénéfiques sur la santé, leur activité thérapeutique ou leurs propriétés aromatiques (**Remmal et al, 1993 ; Dorman et Deans, 2000**)

Techniques d'extraction : Il existe plusieurs techniques d'extraction solvanique, telles que la macération, l'infusion, la décoction, la percolation, l'extraction par solvant chaud, l'extraction par ultrasons, etc. Chaque technique offre des avantages spécifiques en termes d'efficacité d'extraction et de préservation des composés actifs (**Remmal et al, 1993 ; Dorman et Deans, 2000**)

Contrôle de la qualité : La qualité des extraits solvaniques peut varier en fonction de plusieurs facteurs, tels que la qualité des matières premières végétales, le choix du solvant, les conditions d'extraction, etc. Il est important de suivre des procédures standardisées et de contrôler la qualité des extraits solvaniques, notamment en termes de teneur en composés actifs et de pureté (**Remmal et al, 1993 ; Dorman et Deans, 2000**).

Précautions : Bien que les extraits solvaniques puissent avoir des effets bénéfiques, il est important de noter qu'ils peuvent également présenter des risques potentiels. Certains composés actifs peuvent être toxiques à des concentrations élevées ou en cas d'utilisation inappropriée. Il est donc essentiel de suivre les recommandations d'utilisation et de consulter un professionnel de la santé avant d'utiliser des extraits solvaniques à des fins thérapeutiques (**Remmal et al, 1993 ; Dorman et Deans, 2000**).



Partie II
Expérimental

I. MATÉRIEL ET METHODES

I.1. Cadre et objectifs de l'étude

I.1.1. Cadre de l'étude

Notre étude s'est déroulée en une période de trois mois (Février, Mars et Avril 2023).

Au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université **Echahid Elchikh Larabi Tebessi**, Faculté des sciences exactes et de la nature et de vie.

I.1.2. Objectif de l'étude (rappel)

Notre étude pour les Objectifs

- ❖ Évaluation du rendement d'extraction des substances bioactives à partir de la partie aérienne (Feuilles) par macération avec les différents solvants alcooliques (Méthanolique, Ethanolique et Acétonique) d'une plante médicinale *Origanum* et évaporation par Rota vap.
- ❖ Appréciation de l'activité antibactérienne des différents extraits par méthode de diffusion sur gélose en utilisant la technique des puits.
- ❖ Étude de l'impact des protocoles d'extraction sur le rendement d'extraction ainsi que sur l'activité antibactérienne.
- ❖ Étude de l'activité antibactérienne des différentes molécules conventionnelles synthétiques Antibiotique (**ATB**) sur les mêmes souches bactériennes et déterminations de profile de sensibilité aux (**ATB**).
- ❖ Évaluation comparative de l'activité antibactérienne des extraits bio-actifs par rapport aux antibiotiques.

I.2. Matériel

I.2.1. Matériel biologique

I.2.1.1. Matériel végétale

La plante objet de notre étude est l'espèce *Origanum* a été collecté au mois d'Avril 2022, à partir de la Wilaya de Ouad Souf (Sud-Algérie) (**Figure 06**)

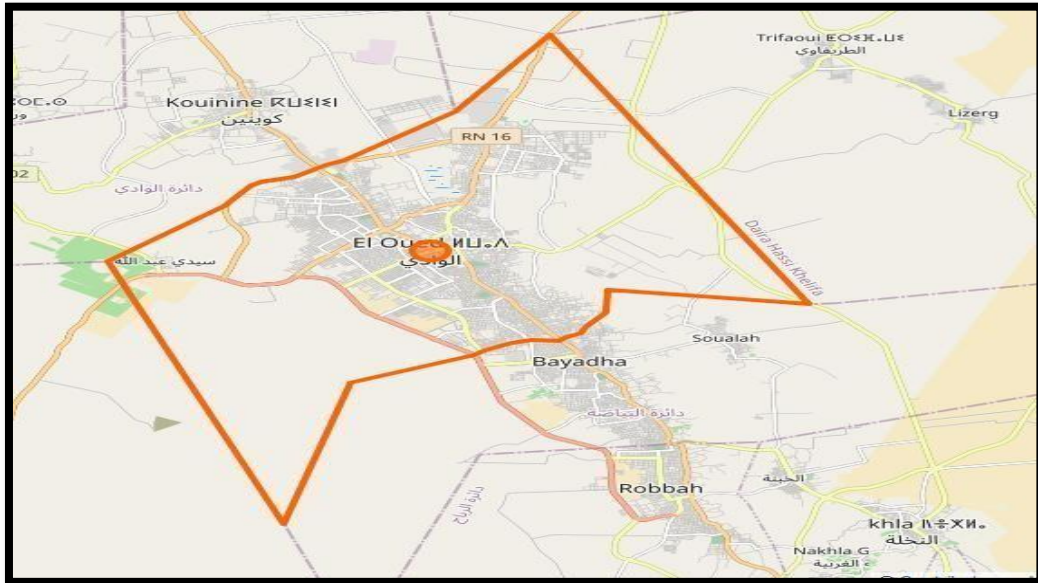


Figure 06. Localisation de la région d'Ouad Souf lieu de la collecte de la plante. (GoogleMaps).

A. Présentation de la plante

Le genre *Origanum*, appartenant à la famille des Lamiacées, riche en substances bioactives qui peuvent être obtenu par extraction (HE et extrait par solvant organique) (**Baytop, 1999**), il comporte 38 espèces qui sont largement répandues dans la région Euro-sibériennes et Irano-sibérienne (**Kokkini, 1996**). Cependant, la plupart des espèces, environ 75%, sont concentrées dans le pourtour méditerranéen, en particulier dans les régions de l'Est (**Ietswaart., 1980**).

Le Zaatar ayant le nom scientifique *Origanum*, est très répandu en Algérie (**Roberto et al., 2002**). C'est une espèce herbacée vivace et elle pousse de façon naturelle sur des terrains rocaillieux secs, plutôt calcaires, entre des altitudes allant de 200 à 1000 m. Elle se développe entre les arbres et les arbustes atteignant une taille allant jusqu'à 80 cm, les tiges rouges à section carrée sont velues avec des feuilles arrondies, vertes, légèrement dentées, les fleurs sont roses ou violets et sont regroupées en petits panicules (**Figueredo et al., 2006**).

Toutes les espèces d'*Origanum* renferment en quantité variable une huile essentielle fortement aromatique (Garland, 1980), les composants principaux des huiles essentielles (HE) d'*Origanum* ont les composés phénoliques (Roberto et al.2002) (Figure 07).



Figure 07. Plante d'*Origanum* (Bouguerra N., 2019)

B. Classification d'*Origanum* (Linée., 1758)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermatophytes</i>
Sous Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Origanum</i>

I.2.1.2.Souches bactériennes

A fin dévaluer l'activité antibactérienne des différents extraits et celles des molécules antibiotiques des souches bactériennes ont été collectées a partir de la pathologie infectieuse humaine urinaire et cutané (**Tableau 04; Figure 08**).



Figure 08. Souches microbiennes testées (photos personnels., 2023)

Tableau 04. Bactéries collectés à partir de la pathologie infectieuse humaine

Ordre	Bactéries isolée	Sexe	Type d'infection
Souche 01	<i>Staphylococcus aureus</i>	Femme	Infection urinaire
Souche 02	<i>Staphylococcus aureus</i>	Homme	Infection cutané
Souche 03	<i>Staphylococcus aureus</i>	Homme	Infection cutané
Souche 04	<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	Femme	Infection cutané
Souche 05	<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	Homme	Infection cutané
Souche 06	<i>Entérobactéries</i>	Femme	Infection urinaire
Souche 07	<i>Entérobactéries</i>	Femme	Infection urinaire
Souche 08	<i>Entérobactéries</i>	Femme	Infection urinaire
Souche 09	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Homme	Infection urinaire
Souche 10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Femme	Infection urinaire

I.2.2. Matériel de laboratoire

I.2.2.1. Milieux de cultures

Différents Milieux de culture ont été utilisés isoler, s'assurer de la pureté des souches bactériennes aux antibiotiques et pour étudier l'activité antibactérienne des extraits d'*Origanum*, et des antibiotiques (**Figure 09**).

Milieux Hektoën : milieux sélectif pour *entérobactéries*.

Milieux Chapman : milieux sélectif pour *Staphylococcus spp*

Milieu Muller Hinton (MH) : milieux pour la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

Gélose nutritif (GN) : milieu solide ordinaire pour la conservation des souches.

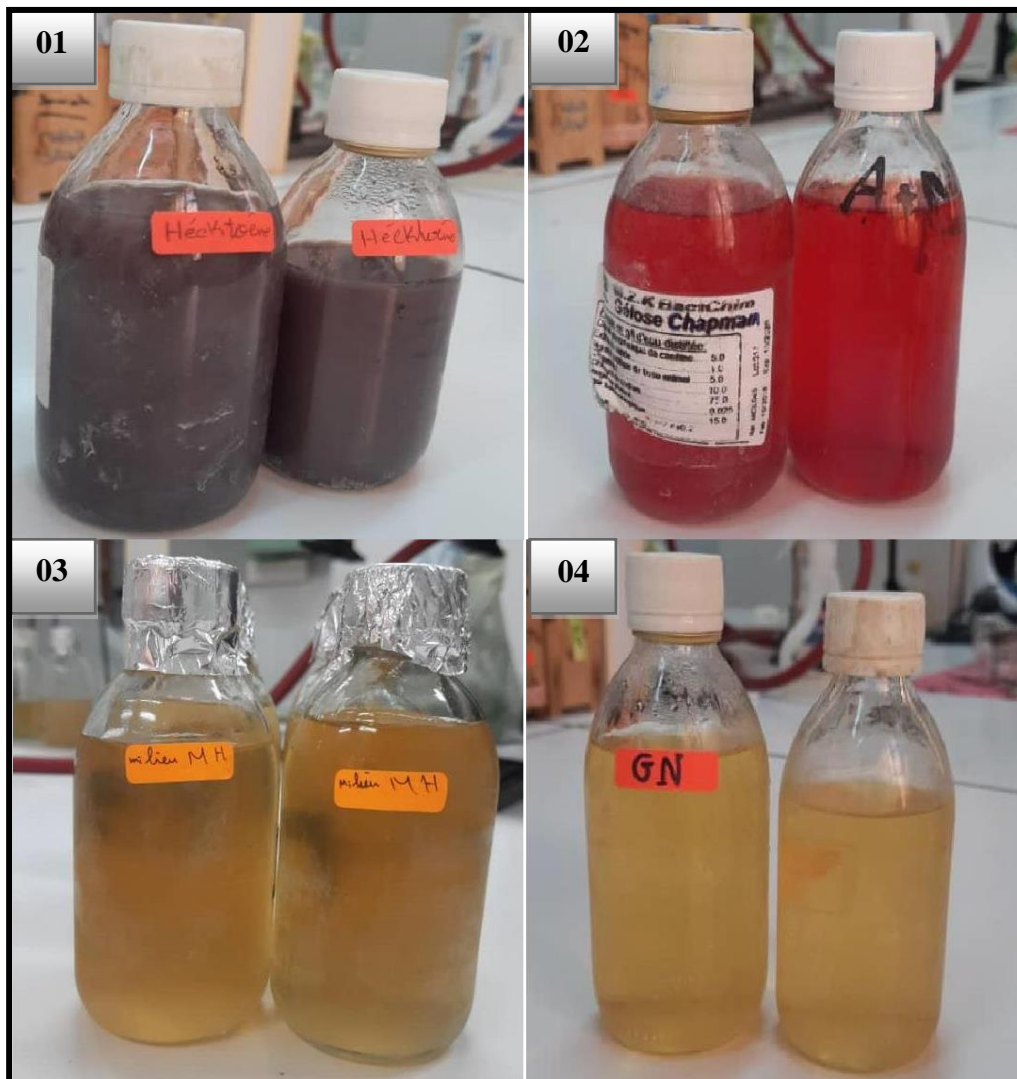


Figure 09. Milieux de cultures utilisés (01 : milieu Hektoën, 02 : milieu Chapman, 03 : milieu MH, 04 : milieu Gélose Nutritive) (photos personnel,,2023)

I.2.2.2. Solvants organiques

Différents solvants organiques ont été utilisés pour réaliser les différentes extractions ainsi que les différentes dilutions des extraits

- Méthanol 80%
- Ethanol 80%
- Acétone absolu
- Diméthylsulfoxyde (DMSO)

I.2.2.3. Disques d'antibiotiques

Différentes molécules des antibiotiques commercialisés sous forme de disques chargés pour étudier la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de ces molécules (**Tableau 05**; **Figure 10**).



Figure 10. Disques Antibiotiques appliqués (photos personnelles.,2023)

Tableau 05. Différentes molécules d'antibiotiques utilisés pour chaque souche testée

Les souches		Les Antibiotiques testés			
<i>Entérobactéries</i>	Amoxicilline (AMC30)	Gentamicine (CN10)	Chloramphénicol (C30)	Cotrimoxazole (CTX3)	Ciprofloxacine (CIP10)
<i>Pseudomonas</i>		Gentamicine (CN10)	Colistine(CT10)		Ciprofloxacine (CIP10)
<i>Staphylococcus</i>	Erythromycine (E30)	Gentamicine (CN10)	Cefoxitin(FOX30)	Clindamycine (CD2)	Ciprofloxacine (CIP10)

I.2.3. Appareillage

- **Evaporateur rotatif (Rota-vape) :** le principe de cette appareil est basé sur la distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant, bien que partiellement. La solution est mis en rotation dans un ballon adapté pour éviter des bulles d'ébullition trop grosse ou mousseuses, pour augmentes la surface en contact avec l'air ainsi que pour éviter l'aspiration de la solution lors de la baisse de pression (**Figure 11**)



Figure 11. Evaporateur rotatif (photos personnelle, 2023).

- **Réfrigérateur:** pour la conservation des extraits bioactives
- **Etuve bactériologique:** pour l'incubation des cultures bactériennes
- **Balance:** pour la mesure le poids.
- **Agitateur magnétique:** pour l'agitation de différents milieux de culture
- **Autoclave:** pour autoclave les milieux de culture, les tubes des conservations et de l'euphysiologique.
- **Bec bunsen :** pour crée une zone stérile pour le travail dans des conditions aseptique.
- **Stérilisateur (four pasteur):** pour stériliser les matériaux (en métal ou en verre) généralement demi-heure à 120°.

I.2.4. verreries et petit consommable

- Pipettes pasteurs stérile
- Ecouvillons bactériologique
- Boites pétries
- Tubes à essai stérile
- Flacons stérile
- Papier wattman
- Les tubes ependorf
- Les emboue

I.3. Méthodes

I.3.1. Conservation des souches

Les souches collectée isolées préalablement identifié et sont conservé par la méthode de pique centrale après le repiquage et l'incubation de 24h dans température 36° dans des tubes à essai stérile ont va Couler la gélose nutritive et laissé la gélose refroidir et à l'aide d'une pipete pasteur stérile on va on prend des Colonies pure et jeune des souches isolée et les ensemences dans le tube par pique centrale et numéroté et Garder les souches jusqu'à leur récupération et utilisation (**Figure 12**)



Figure 12. Conservation des souches (photos personnelles., 2023)

I.3.2. Extraction des substances bioactive de la partie aérienne de la plante genre *Origanum* (feuilles)

Le protocole adopté pour faire l'extraction (Méthanolique, Ethanolique et Acétonique).

A été effectué en trois étapes essentielles : **macération, filtration et évaporation.**

20g d'*Origanum* broyée sous forme de poudre ont été incubés avec **100 ml** de solvant (**80 ml de Méthanol, Ethanol, Acétone et 20ml d'eau distillé**) pendant 24h.

Suivi d'une étape de filtration à l'aide d'un papier wattman, enfin les solvants ont été éliminés par évaporation par Rota vap a température 45°C pendant 30 min les extraits obtenus sont conservée à 4°C jusqu'à leur utilisation (**Figure 13**)

- Afin d'étudier l'impact de la durée de macération sur le rendement et l'activité antibactérienne des extraits on a adopté un même protocole d'extraction avec deux temps 24 h et 72h de macération.

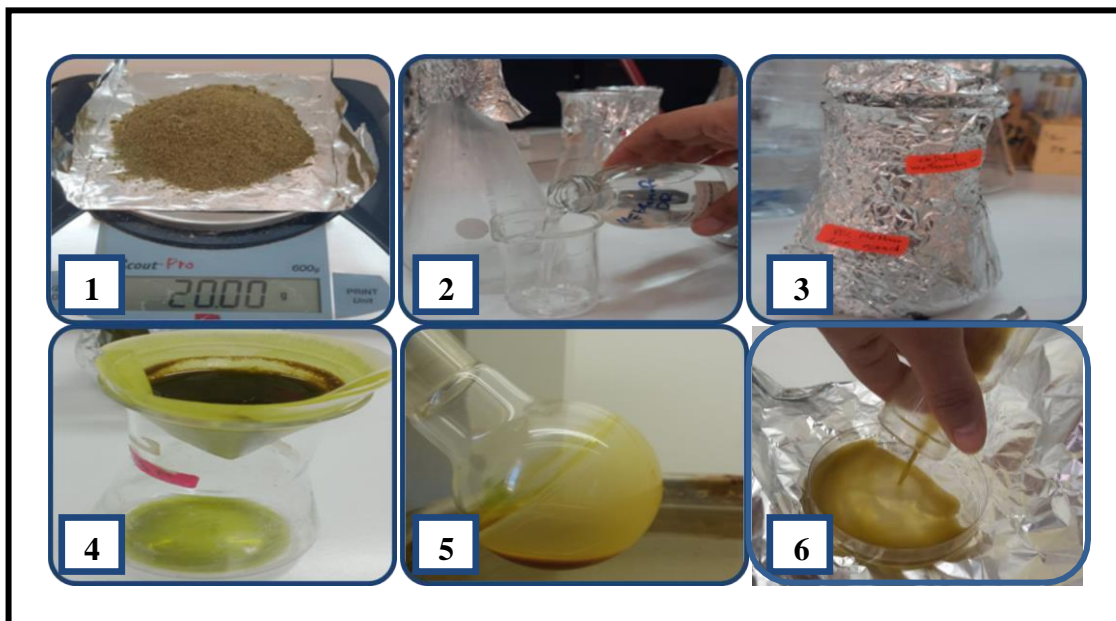


Figure 13. Extraction par solvant Organique de la partie aérienne de la plante d'*Origanum* (feuilles) (photos personnelles. 2023) (1. Peser matière végétale ; 2.addition de 80 ml de solvant ; 3. Macération de 24h ; 4. Filtration avec papier wattman ; 5. Evaporation dans rota vap ; 6. L'extrait (méthanolique, Ethanolique et Acétonique)

I.3.3. Calcule le rendement de l'extraction par différent solvant organique

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminé après évaporation de solvant, il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la plantes ou mis à l'extraction. Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante

$$R (\%)= M / M0 *100$$

R(%):Rendement exprimé en %

- M : Masse en gramme de l'extrait résultant
- M0: Masse en gramme de matériel végétale à traiter

I.3.4. Etude de l'activité antibactérienne des différents extraits selon la technique des puits

I.3.4.1. Récupération des souches conservées et préparation de la suspension bactérienne

I.3.4.1.1.Récupération des souches (protocole de repiquage)

Pour faire l'évaluation de l'activité antibactérienne des trois extraits d'*Origanum*, les souches conservés ont été ré-isoler sur différentes milieux de culture pour avoir des cultures jeune et pure l'ensemencement se fait à l'aide d'une pipete pasteur par des strie sérer puits on les incuber à à 37°C pendant 24h des suspensions bactérienne sont été préparés et ajustée à une densité optique de 0.5 McFarland qui correspond à 1 à 2x10⁸ (UFC/ML) (Figure 14)



Figure 14. Récupération des souches bactériennes (méthode de repiquage) (photos personnelle., 2023)

I.3.4.1.2. Préparation de la solution mère et des différentes dilutions

Pour réaliser nos tests, une solution mère a été réalisée, on pesant **100 mg** de chaque extrait qui ont solubilisant dans un de (**DMSO**) pour avoir une concentration (**100MG /ML**). Pour réaliser nos tests, une solution mère a été réalisée, a partir la (**SM**) 1/2, 1/4 et 1/8 ce qui correspond a concentration finale (**50, 25, 12.5 MG/ML**) (**Figure 15**)



Figure 15. Solution mère et des différentes dilutions (photo personnelle., 2023)

I.3.4.1.3 La méthode de puits (Aromatogramme)

La répartition de la suspension bactérienne sur la surface de la surface glosée Mueller-Hinton par écouvillonnage de haut en bas en stries serrées. Opération répétée deux fois en tournant la boîte de pétri à **60°** de façon à croiser les stries sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Des puits ont été par la suite créés pour recevoir **100µl** de différents extraits avec différentes **dilutions (1 ,1/2 , 1/4 et 1/8)** à raison de quatre puits par boîte (Méthanolique, Ethanolique, Acétonique) à raison de 10 , 5 ,2,5 ET 1,25 MG.100UL , les boîtes ont été laissées pendant **15min** à température ambiante, puis incubées à **37°C** pendant **24h**. Les zones d'inhibition ont été mesurées en millimètre en utilisant un pied à coulisse. Toute fois un **Temion negative (DMSO)** et positif représenté par un antibiotiques (**Figure 16**).

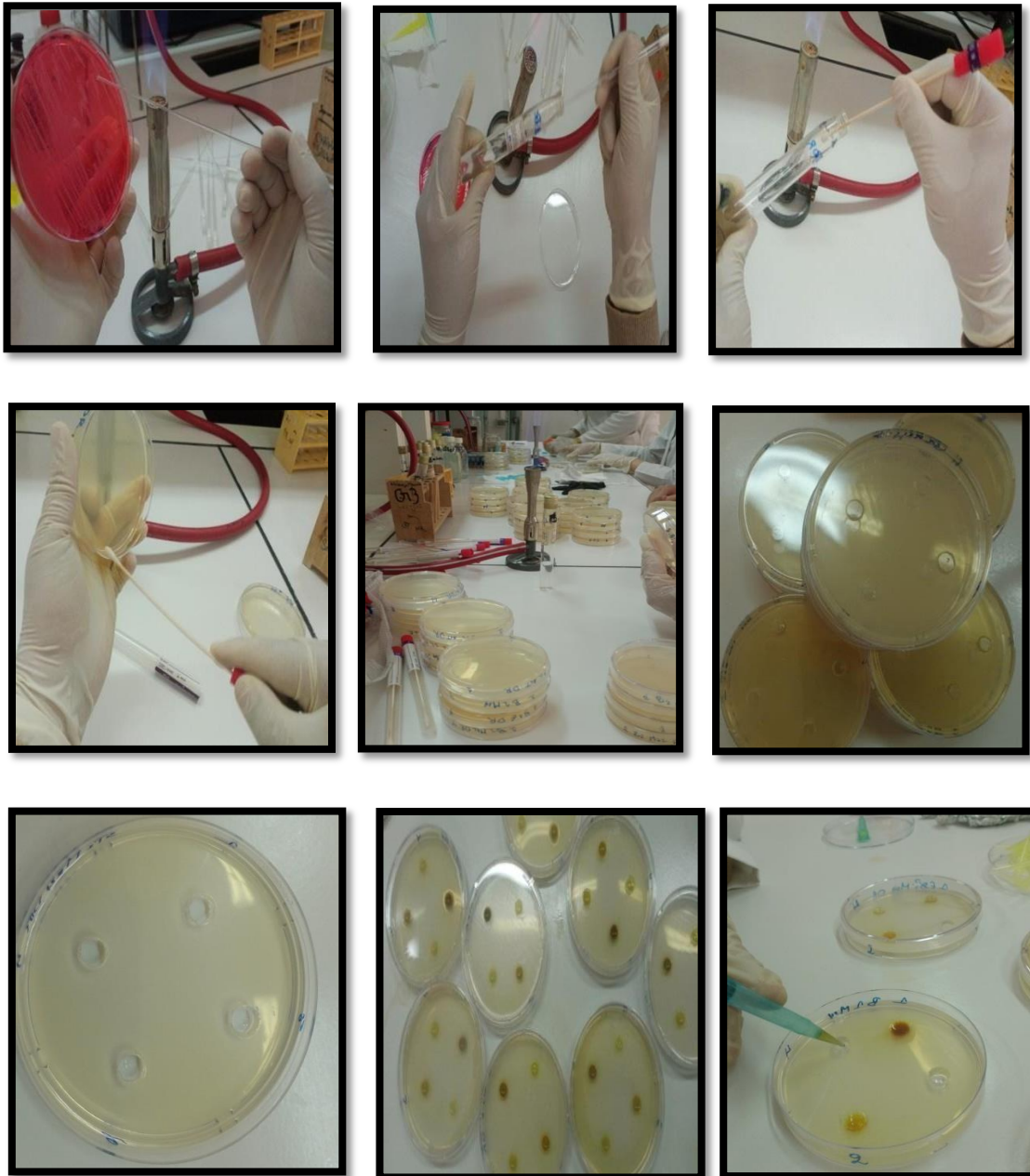


Figure 16. Les différentes étapes de la technique de puits (photos personnelles., 2023)

I.3.4.1.4. Lecture

La lecture des résultats après incubation en mesurant les différentes zones d'inhibition a pied a coulisse et interprétation des résultats suivant une grille établit par (**Hamidi,2013**).

Diamètre ≤ 06 : absence d'activité

Diamètre > 06 et ≤ 10 : faible activité

Diamètre >10 et ≤ 15 : bonne activité

Diamètre > 15 et ≤ 20 : très bonne activité **Diamètre** > 20 : Excellente activité

I.3.5. Étude de l'activité antibactérienne des différents antibiotiques testés (Antibiogramme)

Le profil de sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes était étudié par la méthode de diffusion de disque selon comité de standardisation de l'antibiogramme (CLSI 2018) utilisant une gamme de disques chargés d'antibiotiques commercialisée pour évaluer leur action antibactérienne par rapport aux extraits de notre plante (**Tableau 07**). Des suspensions bactérienne sont été préparées et ajustée à une densité optique de 0,5 McFarland qui correspond à $1 \text{ à } 2 \times 10^8$ UFC/ml La répartition de la suspension bactérienne sur la surface de la glose Mueller-Hinton par écouvillonnage de haut en bas en stries serrées. Opération répétée deux fois en tournant la boîte de pétri à 60° de façon à croiser les stries sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Les disques d'antibiotiques anti staphylococciques sont déposés sur cette surface ensemencée; les boîtes sont incubés à l'étuve à 35 ± 0.5 pendant 24 h. (**Figure 17**)

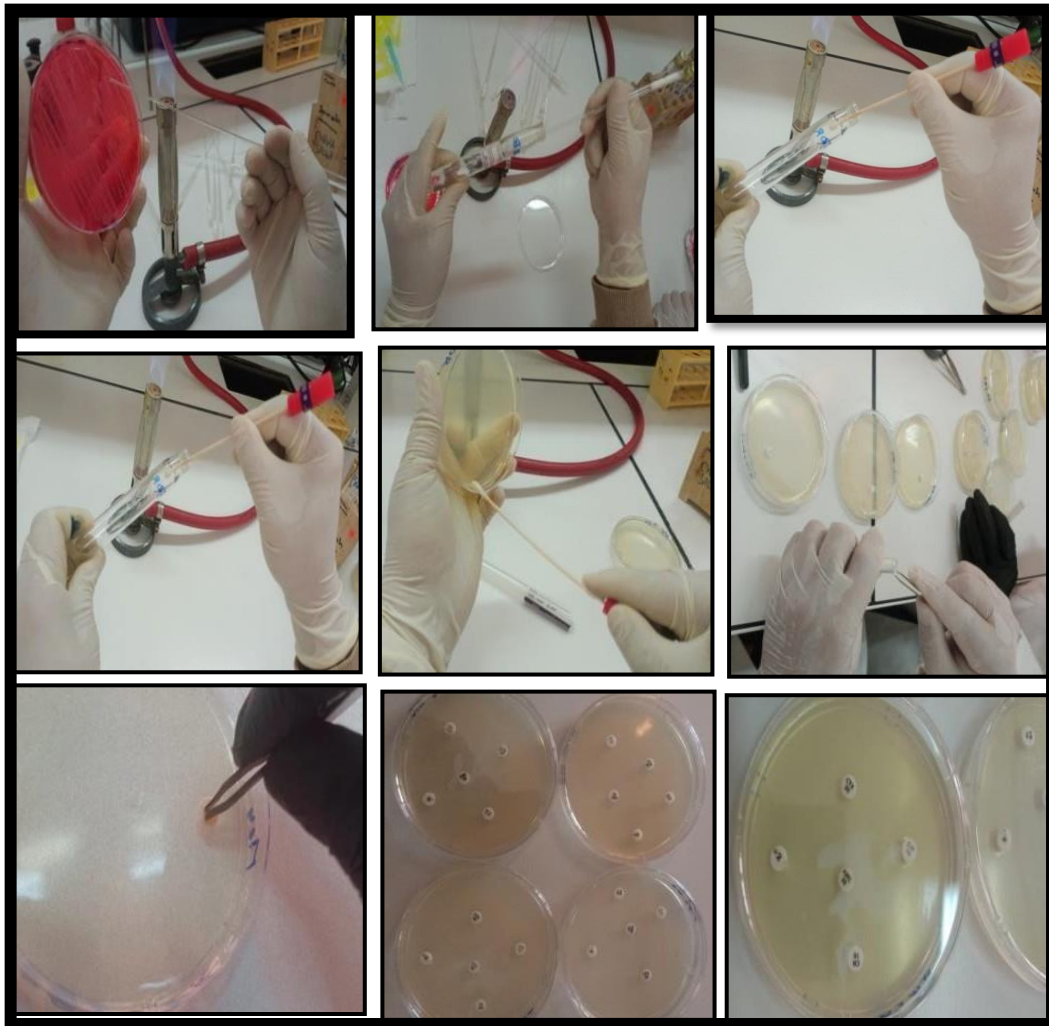


Figure 17. Différentes étapes d'Antibiogramme (photos personnelles., 2023)

I.3.6. Interprétation des résultats de l'antibiogramme des différentes souches testés

après la mesure des diamètres des zones d'inhibition nos résultats ont été interprétés en utilisant la table fournie par le Comité CLCI (**Tableau 06**)

Tableau 06. Table d'interprétation des diamètres des zones d'inhibition enregistrées avec des différents antibiotiques

bactérie	ATB	<i>Staphylocoques</i>		
		S	I	R
Gentamicine		≥ 15	13–14	≤ 12
Erythromycine		≥ 23	14–22	≤ 13
Ciprofloxacine		≥ 21	16–20	≤ 15
Clindamycine		≥ 21	15–20	≤ 14
Cefoxitin		≥ 22		≤ 21
		<i>Entérobactéries</i>		
		S	I	R
Gentamicine		≥ 15	13–14	≤ 12
Ciprofloxacine		≥ 21	16–20	≤ 15
Cefotaxime		≥ 26	23–25	≤ 22
Amoxi+acide Cla		≥ 18	14–17	≤ 13
		<i>Pseudomonas</i>		
		S	I	R
Gentamicine		≥ 15	13–14	≤ 12
Ciprofloxacine		≥ 21	16–20	≤ 15



Partie III
Résultats

I. Résultats

I.1. Aspect macroscopique de différents extraits et Calcul du rendement d'extrait de solvant organique

L'extraction avec les trois types de solvants (Méthanol, Ethanol, Acétone) et l'élimination de ces derniers par l'évaporateur rotatif a permis de récupérer nos extraits avec différents rendement (Figure 18) (Tableau 07)

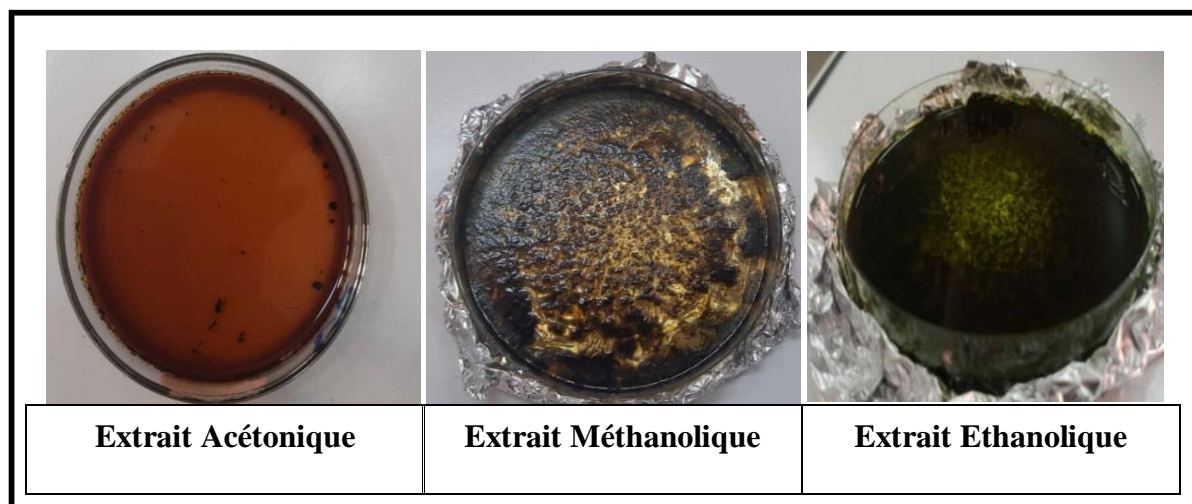


Figure 18. Résultats de l'extraction de différents solvants (photos personnelles., 2023)

Le calcul du rendement d'extraction par la formule suivante $R(\%) = \frac{M}{M_0} \times 100$ a permis de déduire que le rendement de l'extraction Méthanolique 72h (21,5%) été meilleur que les deux rendements Méthanolique 24h 80% et Ethanolique 80% et Acétonique avec les quells on a enregistré (8,5%) et (10,5%) et (18,05%) respectivement (Tableau 7)

I.1.1. Rendement de l'extrait Acétonique

- Masse de flacon et extrait: 29.647g
- Masse de flacon: 26,037g
- Masse de la végétale à traiter: 20g
- Masse de l'extrait: 3,61g
- Rendement (%) = 18.05%

$$3.61/20 * 100 = 18.05\%$$

I.1.2. Rendement de l'extrait Méthanolique 24h

- Masse de l'extrait et flacon:24.56 g
- Masse de flacon:22,865g
- Masse de l'extrait:1.7g
- Rendement en %=8.5%

$$1.5 / 20 * 100 = 8.5\%$$

I.1.3. Rendement de l'extrait Méthanolique 72h

- Masse de l'extrait et flacon : 27.16 g
- Masse de flacon : 22,865g
- Masse de l'extrait : 4.3g
- Rendement en % = 21.5%

$$4.3/20*100 = 21.5 \%$$

I.1.4. Rendement de l'extrait Ethanolique

- Masse de flacon: 19,089g
- Masse de flacon et extrait: 21,18g
- Masse de l'extrait: 2.1g
- Rendement en % = 10.5%

$$2.1/20 * 100 = 10.5\%$$

Tableau 07. Caractères organoleptique de Différents extraits (Méthanolique, Ethanolique, Acétonique)

Extrait	couleur	Odeur
Extrait Méthanolique 24h	Marron	Forte
Extrait Ethanolique	Vert	Attirante
Extrait Acétonique	Marron	Forte
Extrait Méthanolique 72h	Marron claire	Faible

I.2. Récupération des souches bactériennes

Après incubation de notre souches bactériennes à 37° pendant 24 h on a obtenu des colonies isolées avec lesquels on peut réaliser des suspensions mères de différentes souches afin d'effectuer des antibiogrammes et des aromatoigrammes (**Figure 19, 20, 21**)



Figure 19. *Staphylococcus* (*S. aureus* et *S. Epidermidis*) (photo personnelle, 2023)

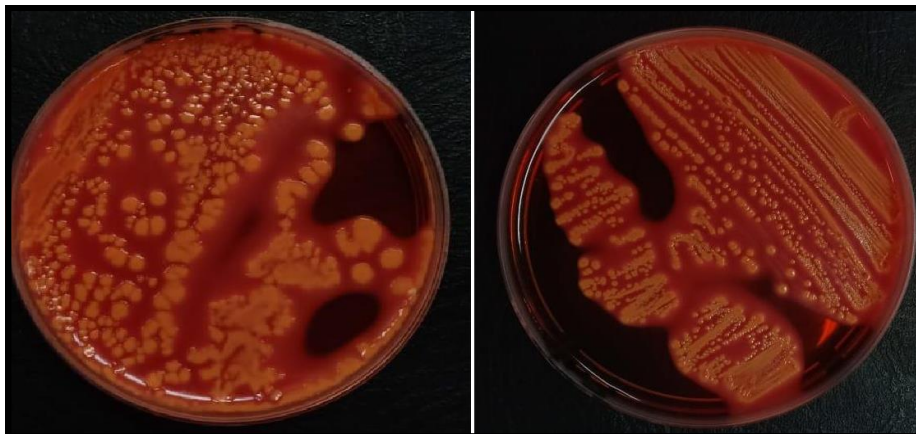


Figure 20. Entérobactéries « *E. Coli* » (photos personnelle, 2023)

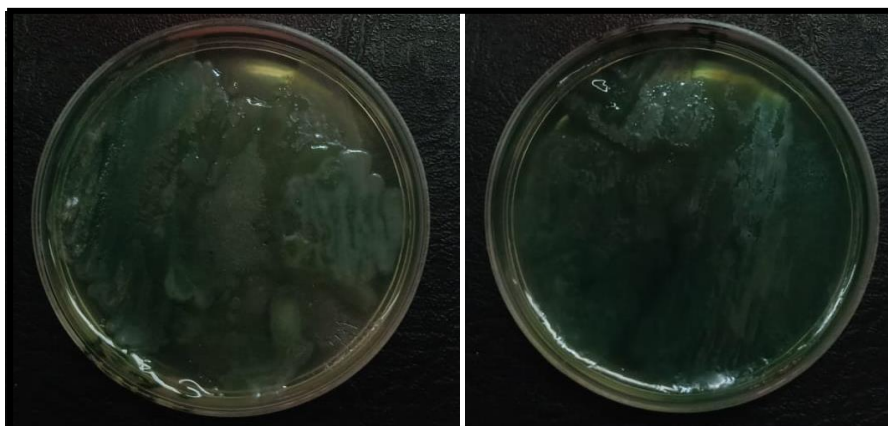


Figure 21. *Pseudomonas aeruginosa* (photos personnelle., 2023)

I.3. Activités antibactériennes observées avec des différents extraits

I.3.1. Activité antibactérienne observée avec l'extrait Méthanolique

La mesure de la zone d'inhibition des différentes dilution de l'extrait méthanolique a permis de conclure que la meilleur activité antibactérienne a été enregistrée avec la solution mère et la dilution 1/2 ou les diamètres ont dépassés les 20 mm d'où l'inhibition de *Staphylococcus aureus* à été remarquable avec tous les dilutions d'un diamètre de 15 jusqu'a 32 mm et *Pseudomonace* présent d'un diamètre de 22 mm et *Entérobactéries* présent d'un diamètre de 20mm (figure 22-23)

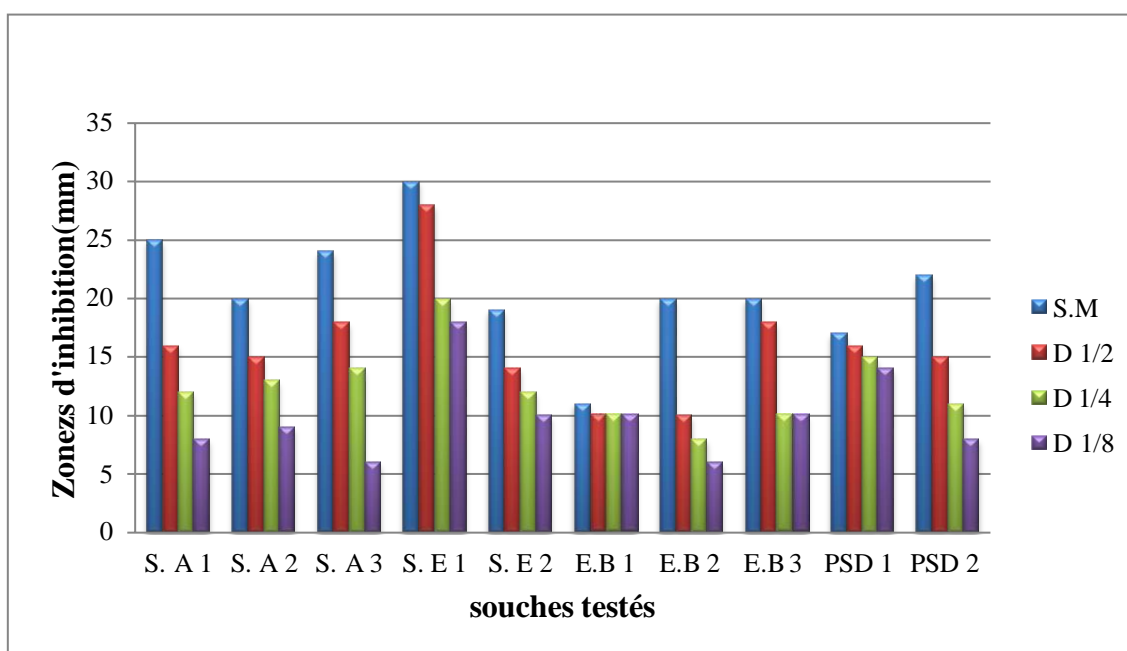


Figure 22. Activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique vis- à-vis les souches testée

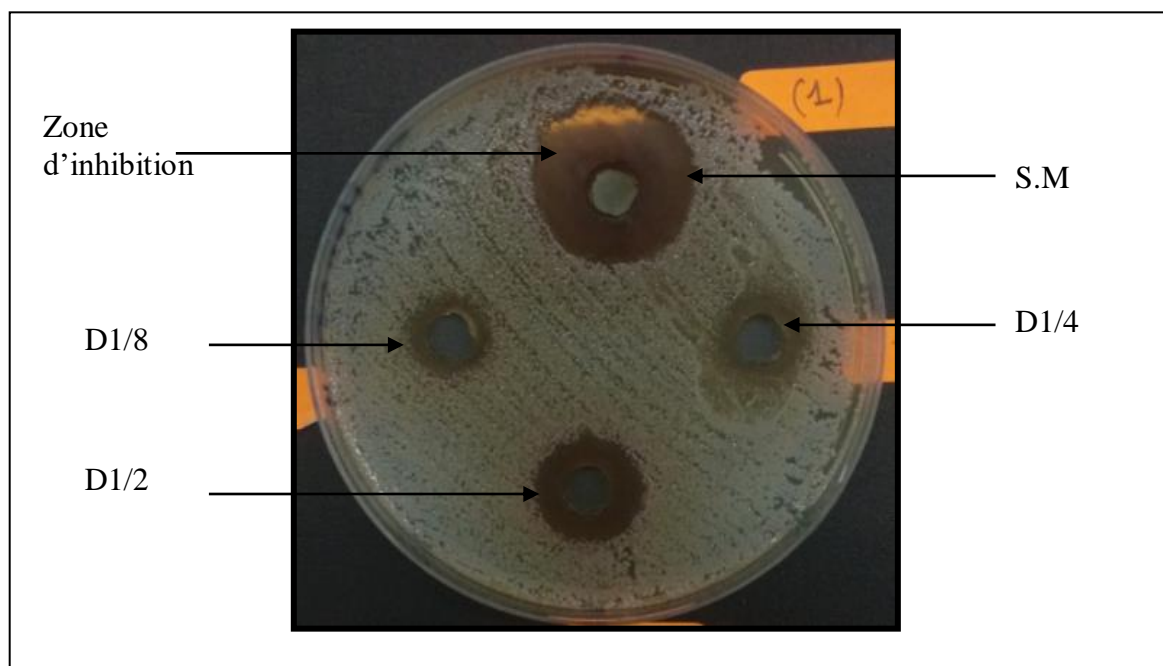


Figure 23. Activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique vis- à-vis les souches testée (photos personnelle, 2023)

I.3.2. les différentes activités antibactériennes observées avec l'extrait Ethanolique

La mesure de la zone d'inhibition des différentes dilution de l'extrait Ethanolique a permis de conclure que la meilleur activité antibactérienne a été enregistrée avec la solution mère et la dilution 1/2 ou les diamètres ont dépassés les 20 mm D'où l'inhibition de *Staphylococcus aureus* d'un diamètre de 10 jusqu'a 22 mm et *Pseudomonas* présent d'un diamètre de 10 mm jusqu'a 16 mm et *Entérobactéries* présent d'un diamètre de 10 mm (figure 24-25)

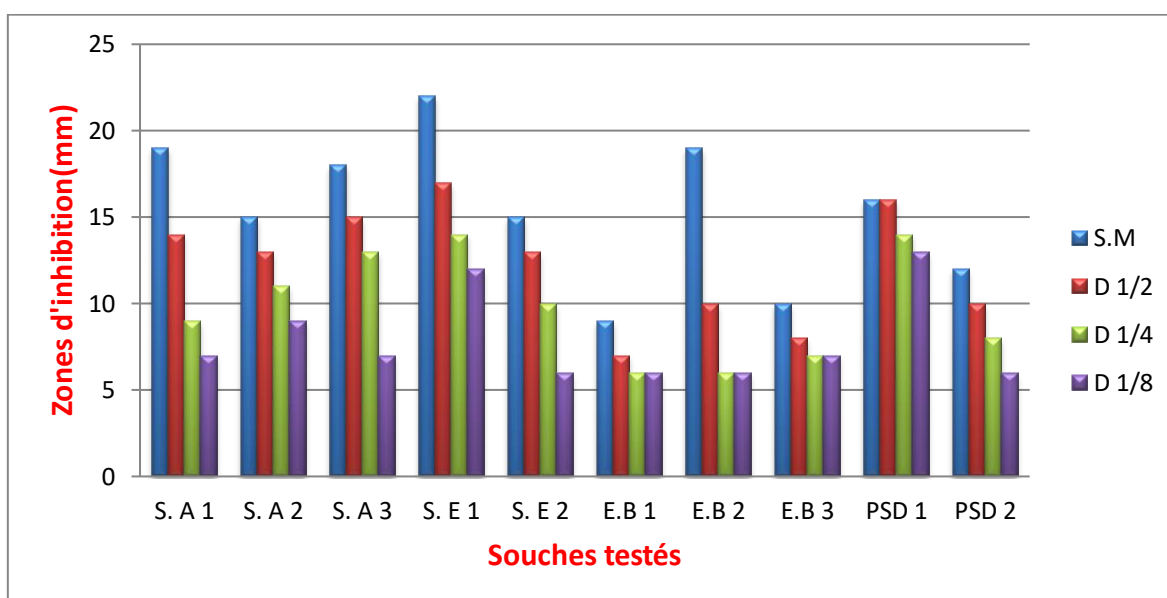


Figure 24. Activité antibactérienne de l'extrait Ethanolique vis-à-vis les souches testée

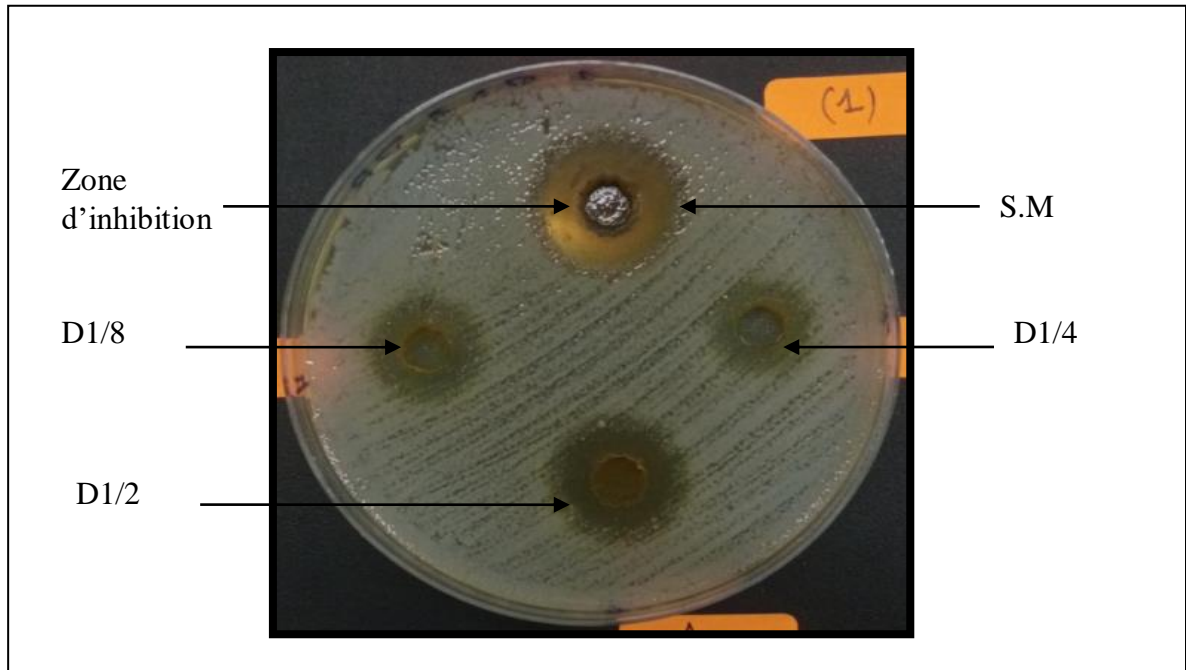


Figure 25. Activité antibactérienne de l'extrait Ethanolique vis- à-vis les souches testée (photos personnelles, 2023)

I.3.3 Les différentes Activités antibactériennes observées avec l'extrait Acétonique

La mesure de la zone d'inhibition des différentes dilutions de l'extrait **Acétonique** a permis de conclure que la meilleur activité antibactérienne a été enregistrée avec la solution mère et la dilution 1/2 ou les diamètres ont dépassés les 20 mm D'où l'inhibition de *Staphylococcus aureus* d'un diamètre de 06 mm jusqu'a 21 mm et *Pseudomonas* présent d'un diamètre de 10 mm jusqu'a 18 mm et *Entérobactéries* présent d'un diamètre de 10 mm (figure 26-27).

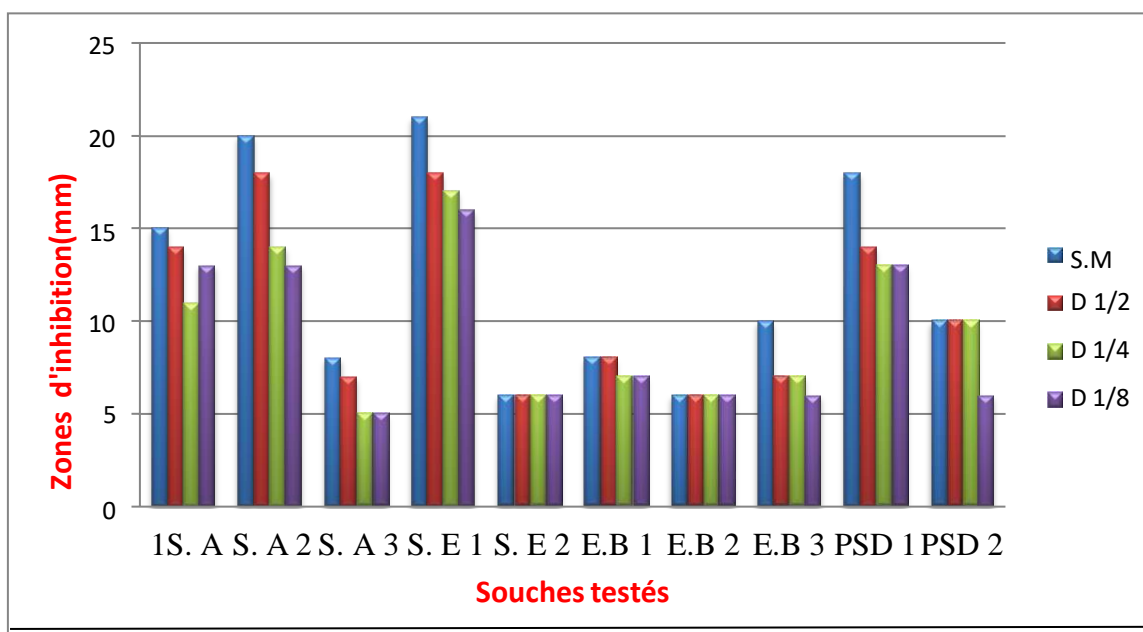


Figure 26 Activité antibactérienne de l'extrait Acétonique vis-à-vis les souches testées

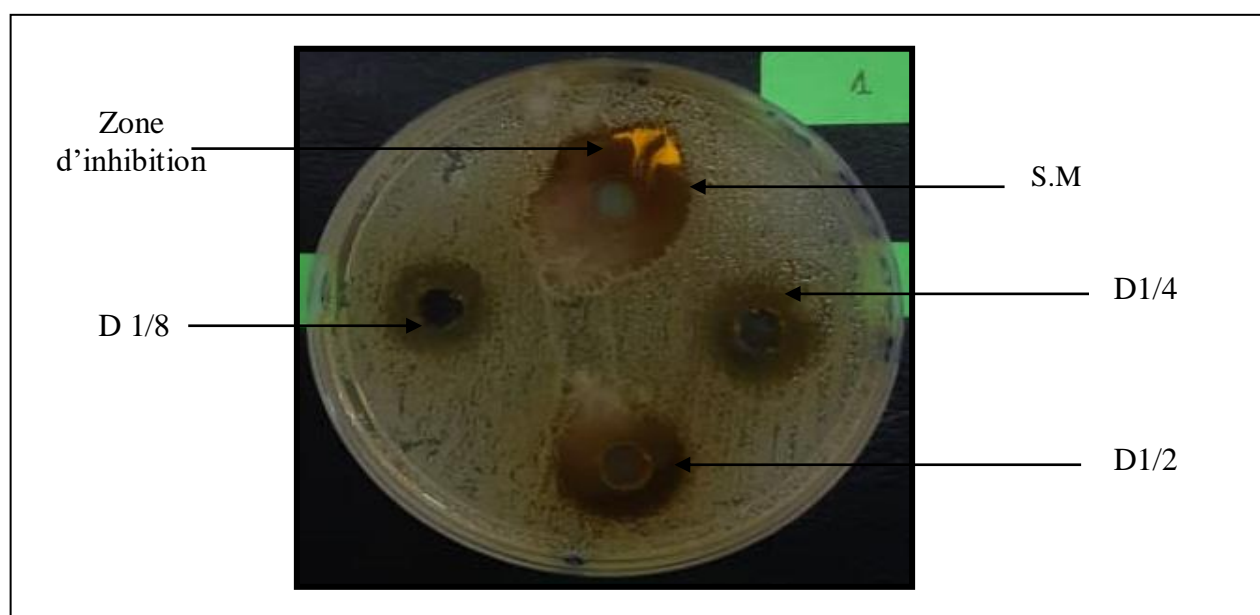


Figure 27. L'activité antibactérienne de l'extrait Acétonique vis-à-vis les souches testées (photos personnels, 2023)

I.3.4. Catégories de l'activité antibactérienne observée avec les suspensions mères et les différentes dilutions des extraits (Ethanolique, Méthanolique, Acétonique)

La mesure de la zone d'inhibition des différentes dilutions de différents extraits a permis de conclure que la meilleure activité antibactérienne a été enregistrée avec la solution mère et la dilution 1/2 ou les diamètres ont dépassés les 20 mm et les meilleurs diamètres ont été enregistrés avec l'extrait méthanolique (**Figure 28, 29, 30, 31**)

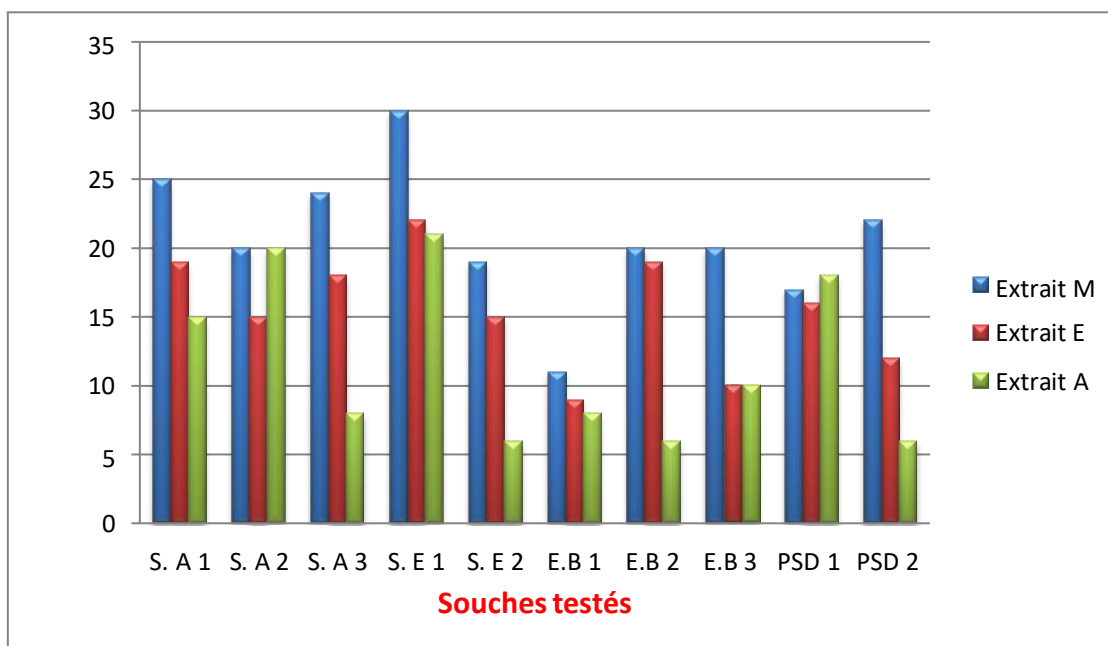


Figure 28. Activité antibactérienne de suspension mère des extraits (Ethanolique, Méthanolique, Acétonique) vis-à-vis les souches testée

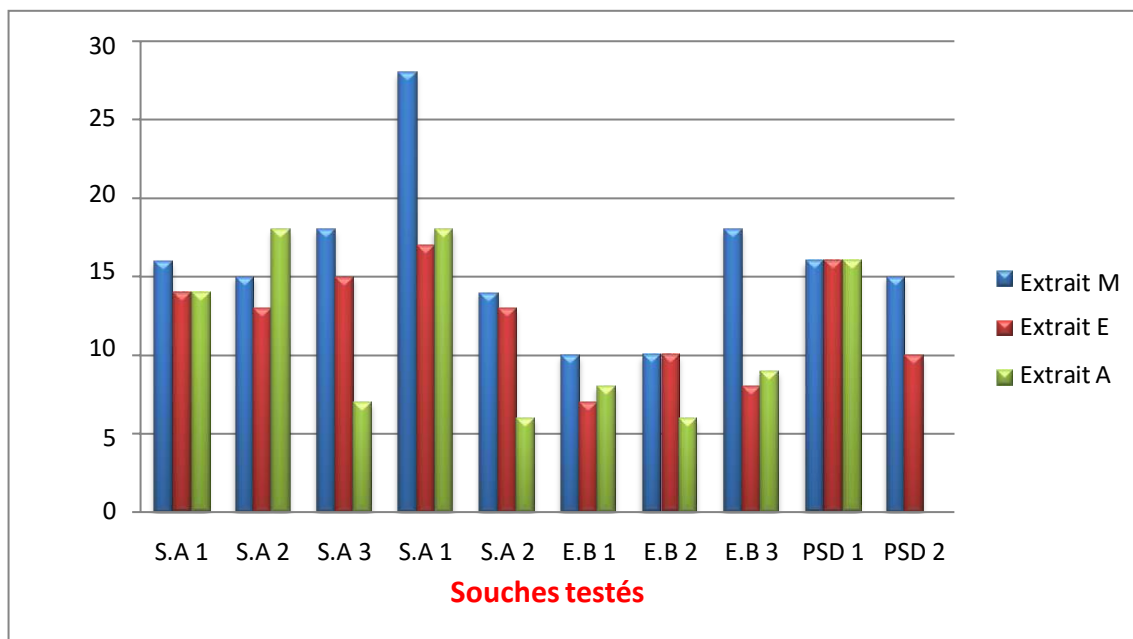


Figure 29. Activité antibactérienne de dilution 1/2 des extraits (Ethanologique, Méthanolique, Acétonique) vis-à-vis les souches testée

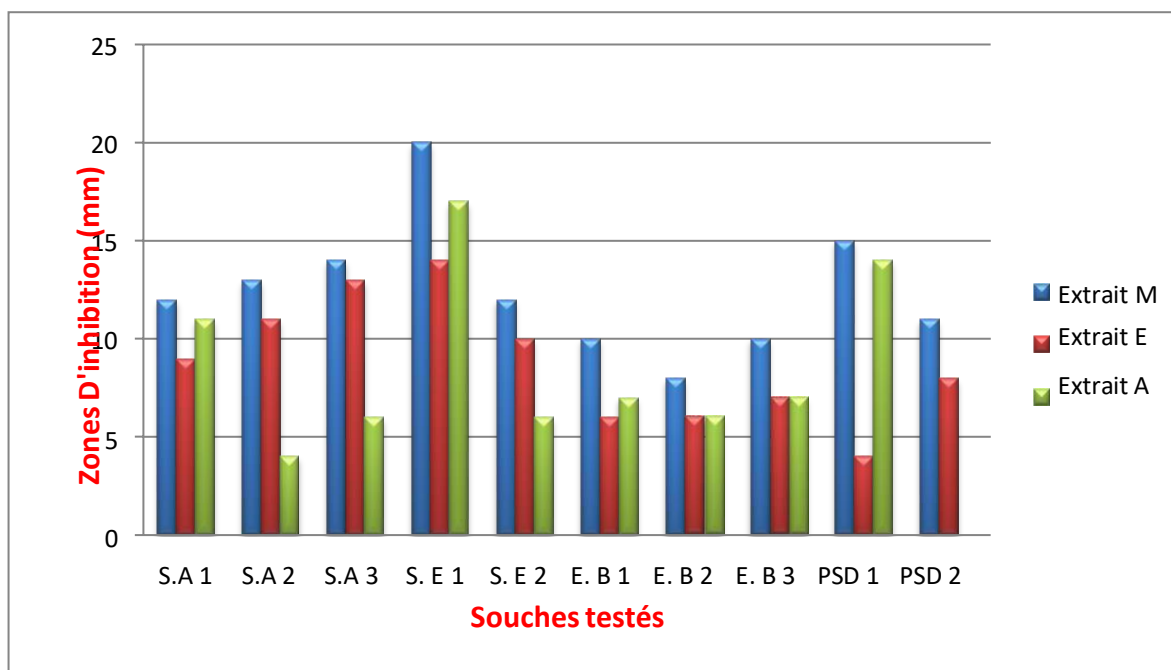


Figure 30. Activité antibactérienne de dilution 1/4 des extraits (Ethanologique, Méthanolique, Acétonique) vis-à-vis les souches testée

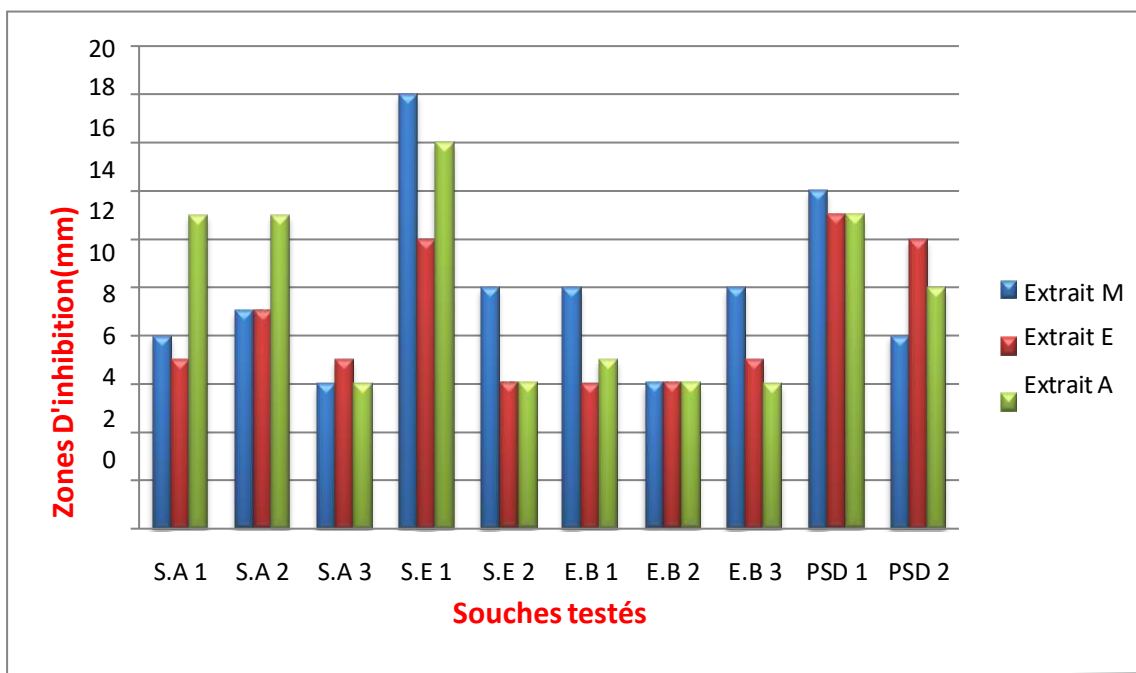


Figure 31. Activité antibactérienne de dilution 1/8 des extraits (Ethanologique, Méthanolique, Acétonique) vis-à-vis les souches testée

I.4. Résultats d'Etude de l'impact de la durée de macération sur l'activité antibactérienne

I.4.1. Résultats de différentes activité antibactérienne observée avec l'extrait méthanolique 72h

La mesure de la zone d'inhibition des différentes dilution de l'extrait méthanolique 72h a permis de conclure que la meilleur activité antibactérienne a été enregistrée avec la solution mère et la dilution 1/2 ou les diamètres ont dépassés les 20 mm. D'où l'inhibition de *Staphylococcus* d'un diamètre de 15 jusqu'a 31 mm et *Pseudomonas* présent d'un diamètre de 12 mm jusqu'a 22 mm et *Entérobactéries* présent d'un diamètre de 10 mm jusqu'à 19 mm (tableau 20-23) (figure 32-33).

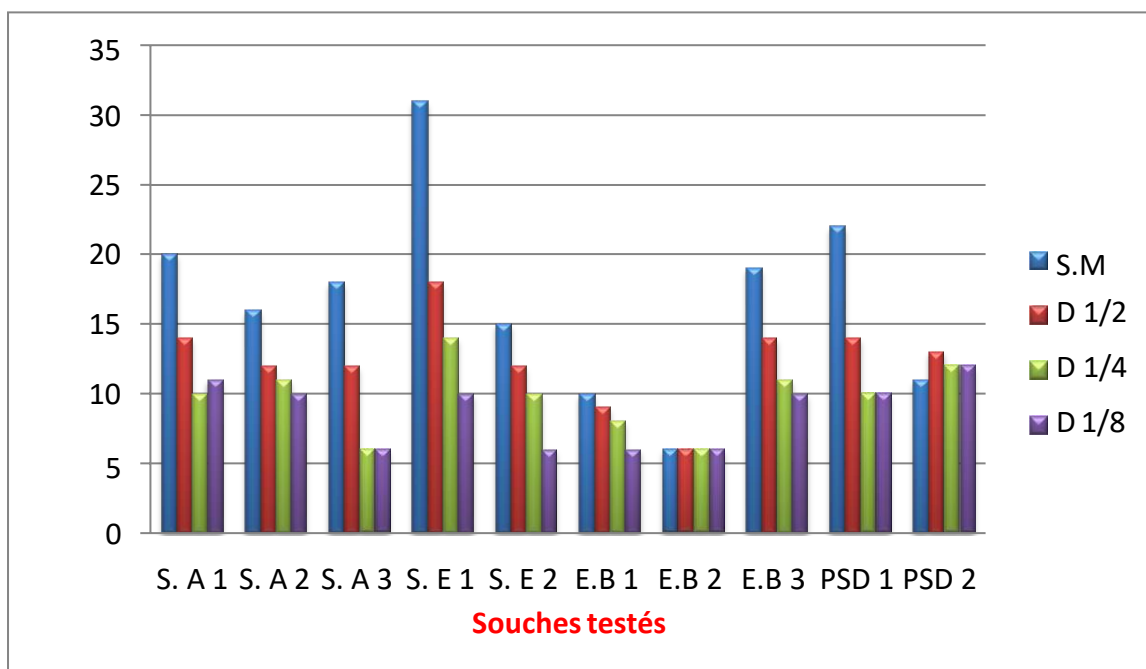


Figure 32. Activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique de 72h vis- à-vis les souchestestée

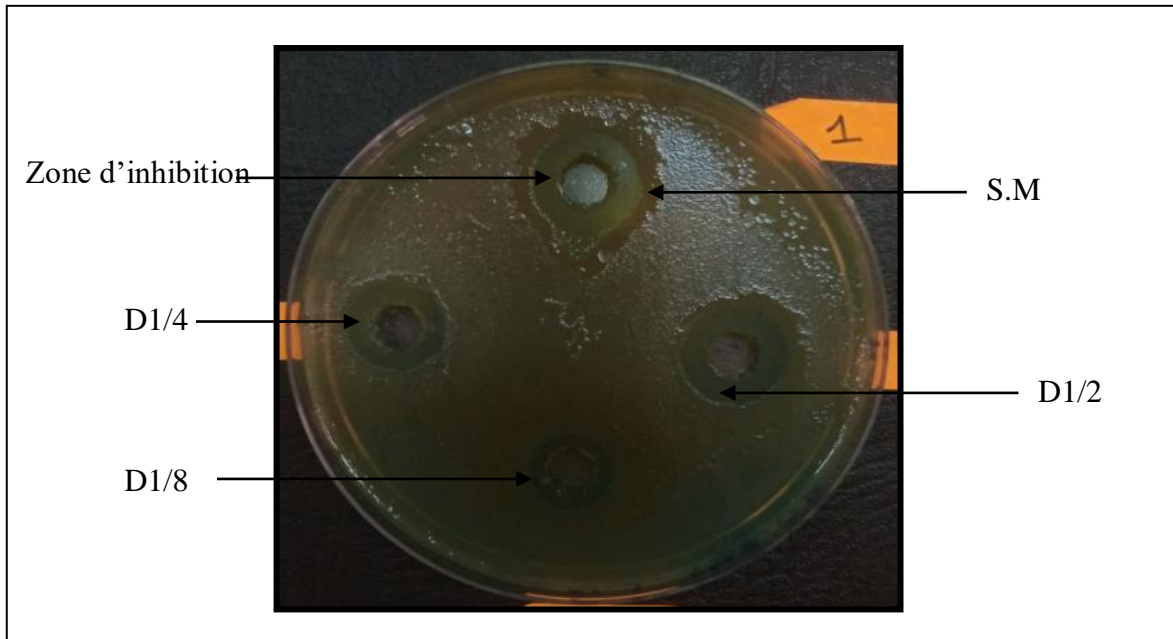


Figure 33. L'activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique de 72h vis- à-vis les souches testée (photos personnelles, 2023)

I.4.2. Comparaison de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Méthanolique 72h et l'extrait méthanolique 24h

A. impact la durée de macération de sur le rendement Méthanolique 72h et l'extrait méthanolique 24h

Le calcul du rendement d'extraction par la formule suivante $R(\%) = M/M_0 \times 100$ a permis de déduire que le rendement de l'extraction Méthanolique 72h (21,5%) été meilleur que le rendement Méthanolique 24h 80% avec lequel on a enregistrés (8,5%) respectivement.

B. impact la durée de macération sur l'activité antibactériennes Méthanolique 72h et l'extrait méthanolique 24h

La mesure de la zone d'inhibition des différentes dilutions de extraits méthanolique 24h et méthanolique 72h a permis de conclure que la meilleur activité antibactérienne a été enregistrée avec solutions mères et les dilutions 1/2 ou les diamètres ont dépassés les 20 mm pour les deux extraits mais les résultats remarquable que l'extrait **Méthanolique 24h** été meilleur que l'extrait **Méthanolique 72h** (Figure 34, 35, 36, 37)

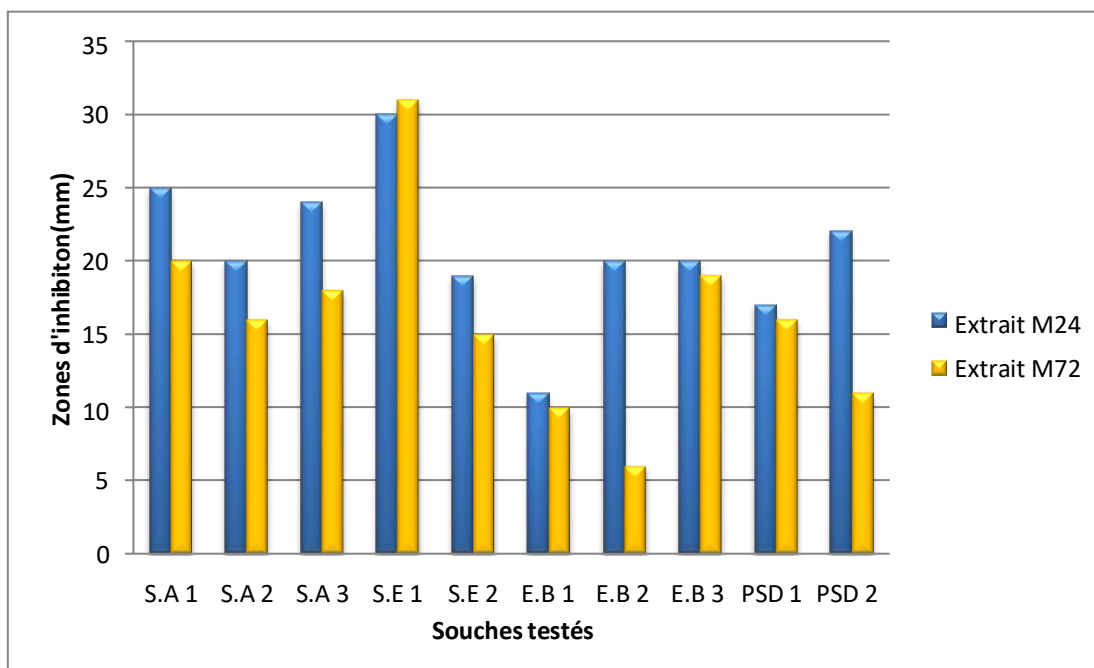


Figure 34. Présentation graphique de comparaison de l'activité antibactérienne de la suspension mère des extraits Méthanolique 24h et 72h vis- à-vis les souches testée

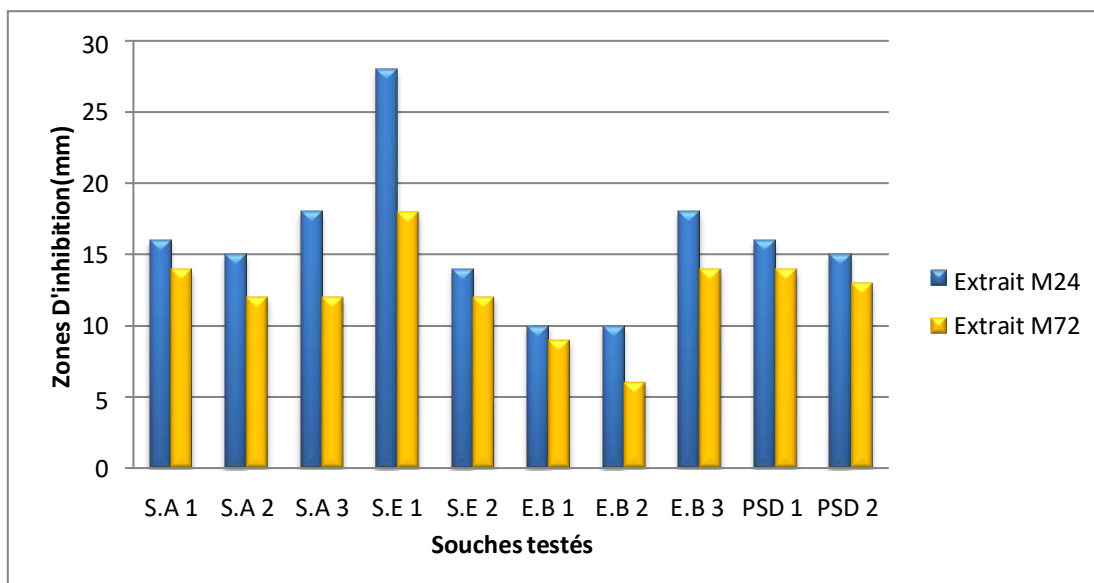


Figure 35. Présentation graphique de comparaison de l'activité antibactérienne de dilution $\frac{1}{2}$ des extraits Méthanolique 24h et 72h vis- à-vis les souches testée

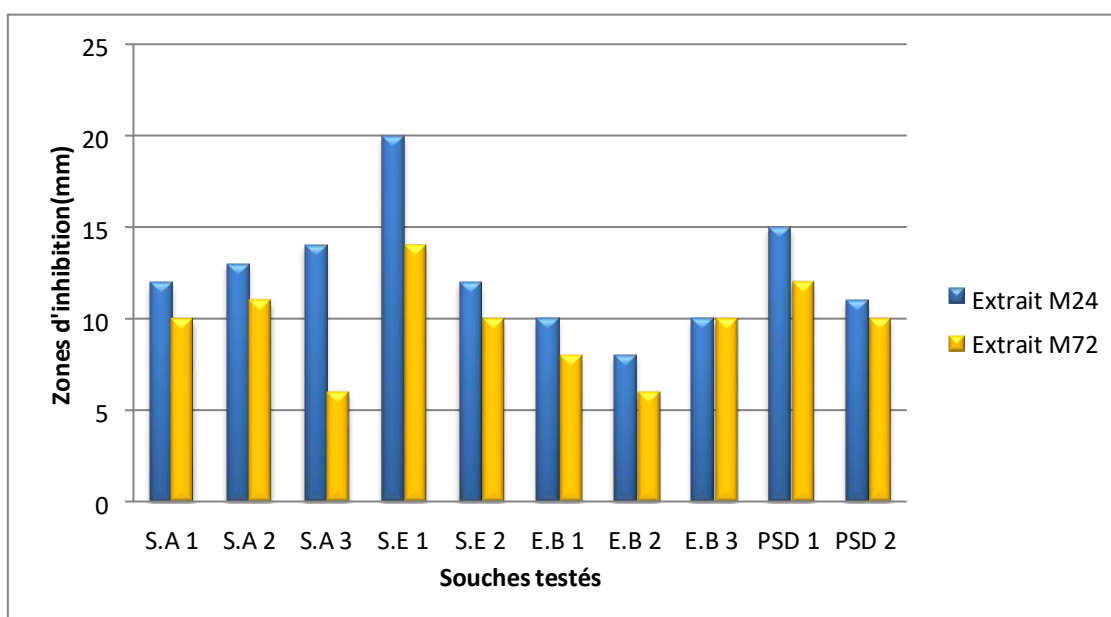


Figure 36. Activité antibactérienne de dilution $\frac{1}{4}$ des extraits Méthanolique 24h et 72h vis- à-vis les souches testée

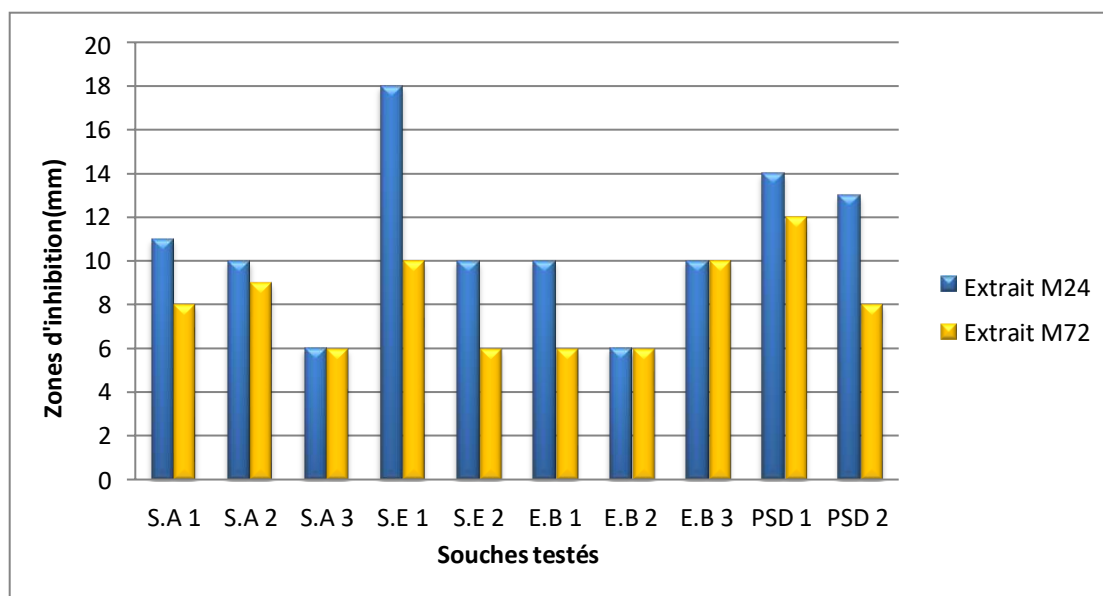


Figure 37. Activité antibactérienne de dilution 1/8 des extraits Méthanolique 24h et 72h vis-à-vis les souches testée

I.5. Catégories de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme)

I.5.1. Résultats de Staphylococcus (aureus et Epidermidis) de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme)

Après incubation de 24h et mesure des diamètres d'inhibition par pied à coulisse des différentes zones d'inhibitions on a enregistré les résultats suivants : (Tableau24).

Tableau24. Diamètres des zones d'inhibition enregistrés avec les antibiotiques testés sur les souches genre *Staphylocoque*

Les souches testées	Les Antibiotiques appliqués				
	CN	CIP	E	CD	FOX
<i>S. aureus 01</i>	17	21	20	22	25
<i>S.aureus 02</i>	16	25	18	21	26
<i>S.aureus 03</i>	18	31	22	23	27
<i>S. Epidermidis 01</i>	26	28	6	6	18
<i>S.Epidermidis 02</i>	30	31	6	28	30

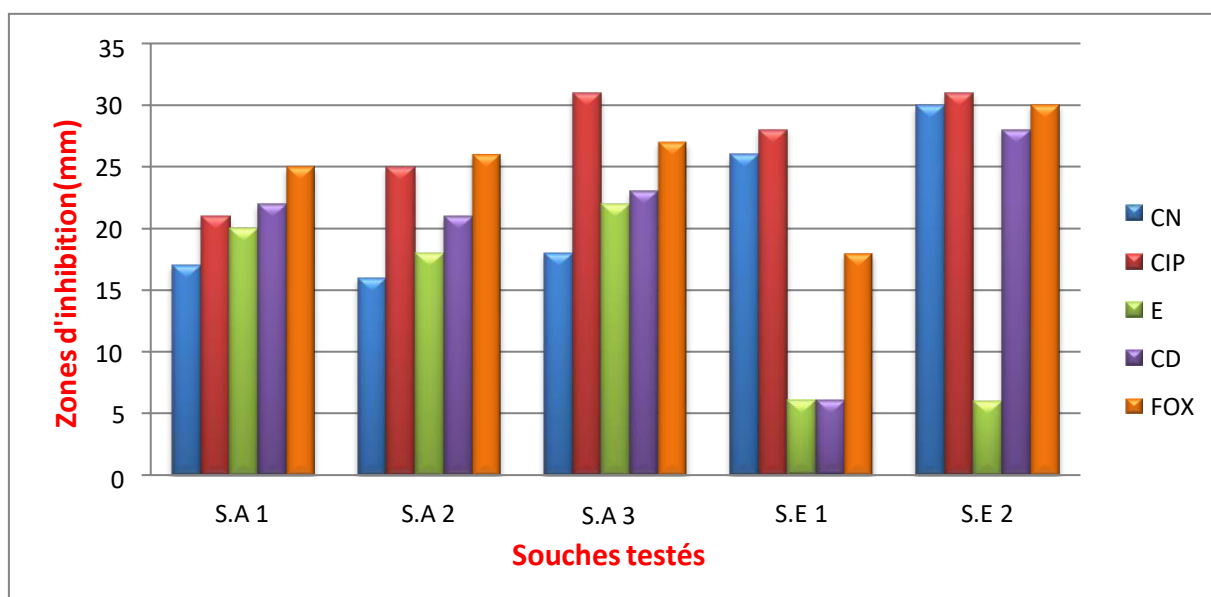


Figure 38. Activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-visles *Staphylococcus (aureus* et *Epidermidis)*

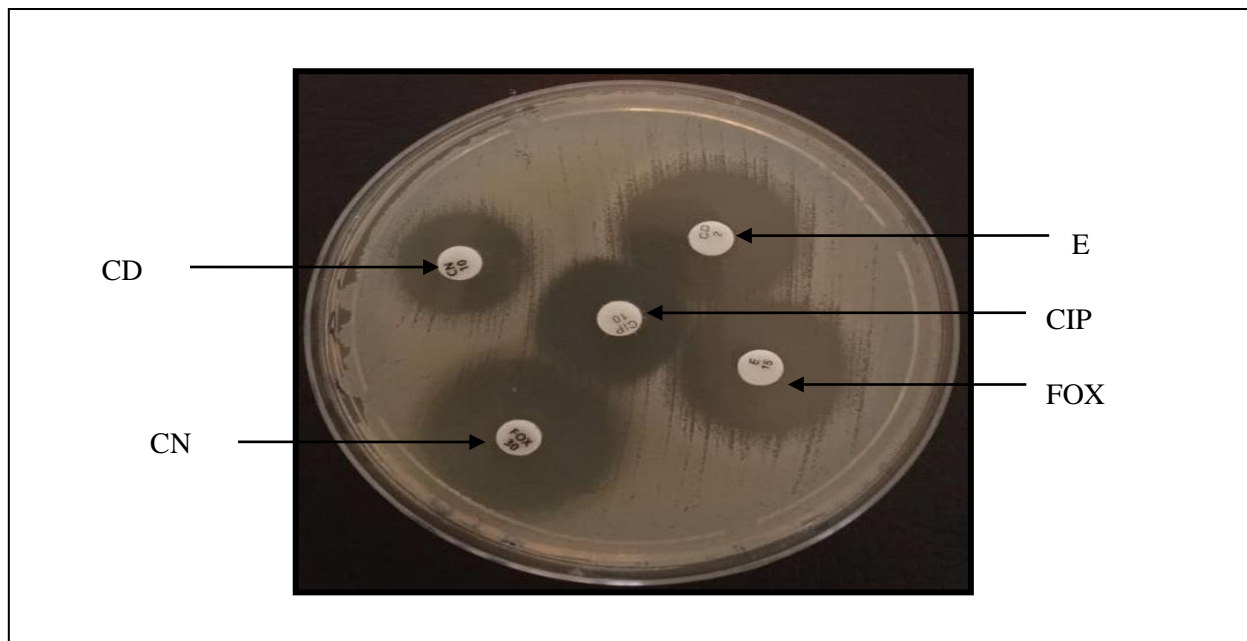


Figure 39. Activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-vis les *Staphylococcus (aureus et Epidermidis)* (photos personnels., 2023)

I.5.2. Résultats des Entérobactéries de l’activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme)

Après incubation de 24h et mesure des diamètres d’inhibition par pied à coulisse des différentes zones d’inhibition on a enregistré les résultats suivants (**Tableau25**)

Tableau 25. Résultats des Entérobactéries de l’activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme)

Les souche testées	Les Antibiotiques appliquées				
	AMC	CIP	CTX	CN	C
<i>Entérobactéries 01</i>	21	10	15	10	8
<i>Entérobactéries 02</i>	8	32	35	22	24
<i>Entérobactéries 03</i>	12	28	27	18	23

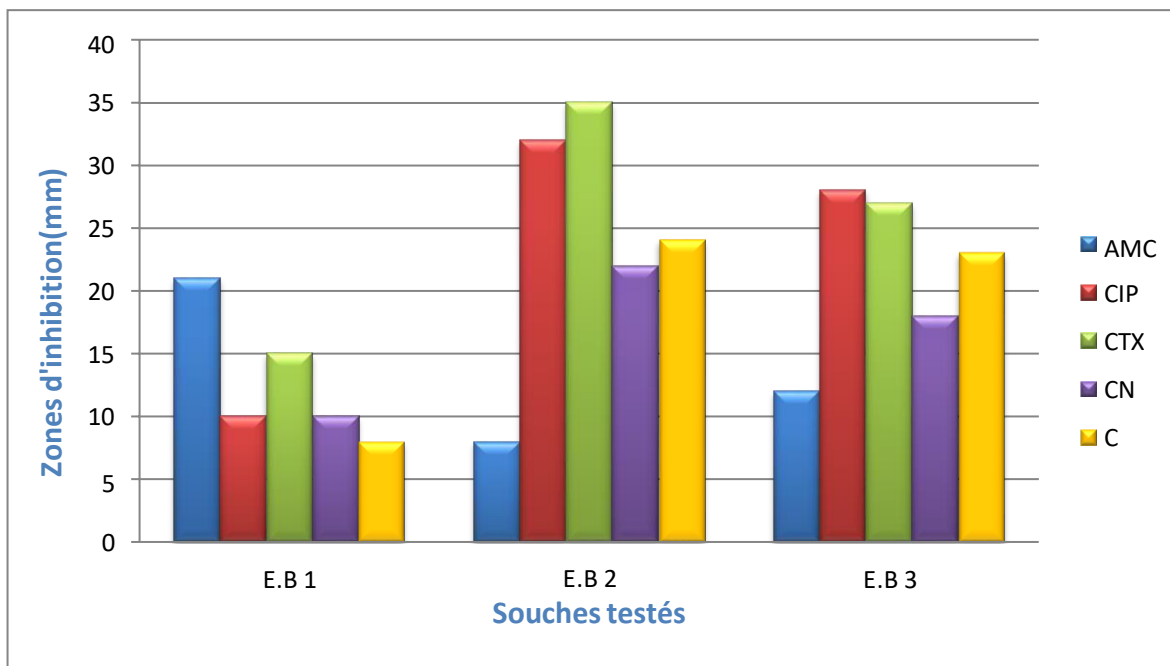


Figure 40. Activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-vis les Entérobactéries

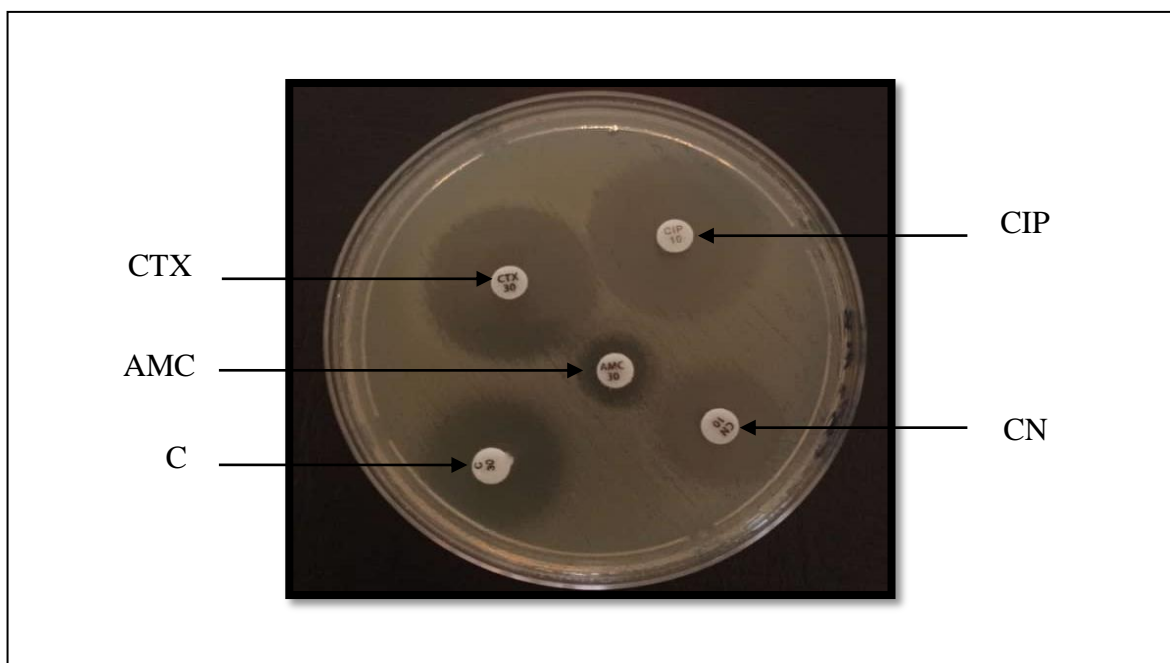


Figure 41. Activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-vis les *Entérobactéries*
(photos personnels, 2023)

I.5.3. Résultats des *Pseudomonas aeruginosa* de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme)

Après incubation de 24h et mesure des diamètres d'inhibition par pied à coulisse des différentes zones d'inhibitions on a enregistré les résultats suivants

Tableau 26. Résultats des *Pseudomonas. Aeruginosa* de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme)

Les souche testées	Les Antibiotiques appliquées		
	CT	CIP	CN
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 01	15	41	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 02	12	27	19

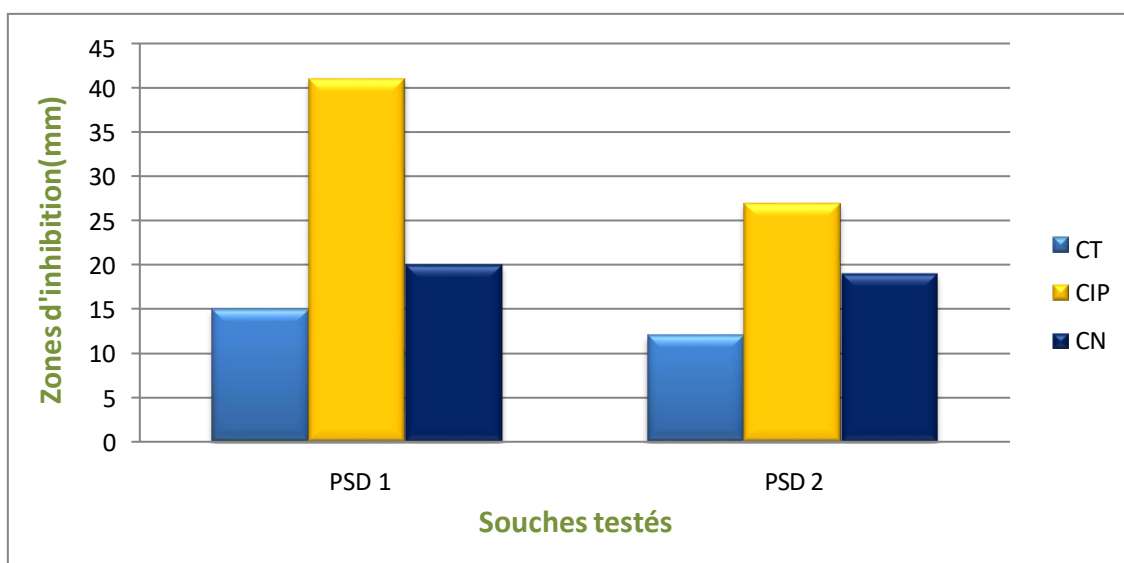


Figure 42 : Activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-visles *Pseudomonas aeruginosa*

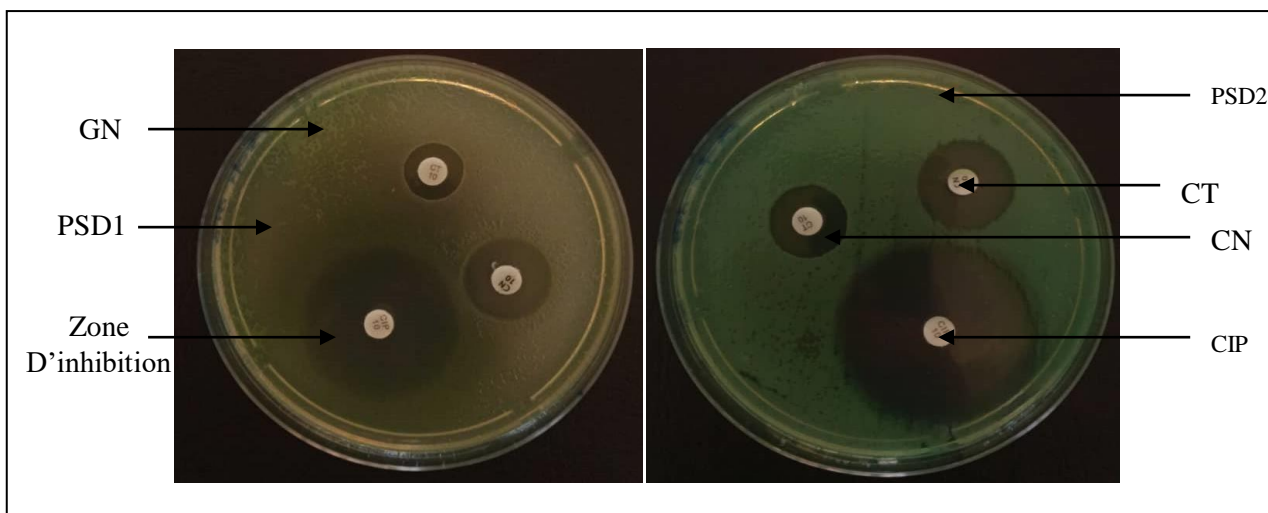


Figure 43. Résultats des *Pseudomonas. aeruginosa* de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme) (photos personnelles., 2023)

I.6. Résultats de la détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques

La détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques à permis de révéler trois profils avec les Staphylocoques, trois profils avec les Entérobactéries et un seul profil avec le pseudomonas (**Tableau 27**)

1. les profils déterminés avec les *Staphylocoques*

- Profil (S ; S ; I ; S ; S) avec trios souches.
- Profil (S S R R R) avec une seule souche.
- Profil (S S R S S) avec une seule souche.

2. les profils déterminés avec les *Entérobactéries*

- profil (S R R R R) avec une seule souche.
- profil (R S S S S) avec une seule souche.
- profil (I ; S R S S) avec une seule souche.

3- Un seul profil déterminé avec les *pseudomonas* (R S S)

Tableau 10. Profils de sensibilités aux Antibiotiques observé avec les souches testé

Les souches testées	molécules d'antibiotiques utilisés				
	(CN10)	(CIP10)	(E30)	(CD2)	(FOX30)
<i>Staphylococcus</i>	S	S	I	S	S
	S	S	I	S	S
	S	S	I	S	S
	S	S	R	R	R
	S	S	R	S	S
<i>Entérobactéries</i>	(AMC30)	(CN10)	(C30)	(CTX30)	(CIP10)
	S	R	R	R	R
	R	S	S	S	S
	I	S	R	S	S
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(CT)		(CIP10)		(CN10)
	R		S		S
	R		S		S

I.7. Résultats de l'étude comparative de l'activité des extraits et les antibiotiques

L'étude comparative de l'activité antibactérienne des différents extraits avec celles des antibiotiques testés a permis d'enregistrer une excellente, très bonnes et bonnes activités à l'égard des tous les profils d'antibiorésistance à l'exception de l'extrait Acétonique qui a enregistré une faible activité visé avis des entérobactéries (**Tableau 11**).

Tableau 11. Profil de sensibilités des antibiotiques et des extraits bioactifs

Les souches testées	molécules d'antibiotiques utilisés					Extrait utilisé	Activité
	(CN10)	(CIP10)	(E30)	(CD2)	(FOX 30)		
<i>Staphylococcus</i>	S	S	I	S	S		
	S	S	I	S	S		
	S	S	I	S	S		
	S	S	R	R	R		
	S	S	R	S	S		
<i>Entérobactéries</i>	(AMC30)	(CN10)	(C30)	(CTX30)	(CIP10)		
	S	R	R	R	R		
	R	S	S	S	S		
	I	S	R	S	S		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(CT)	(CIP10)	(CN10)				
	R	S	S				
	R	S	S				



VI.
Discussion

VI. Discussion

Les plantes médicinales sont connues pour leurs diverses activités biologiques. Une de ces activités est l'activité antibactérienne cette propriété a assurée une place pour les extraits de ces plantes dans plusieurs domaine Pharmaceutique (**Romeiras et al;2023**) .

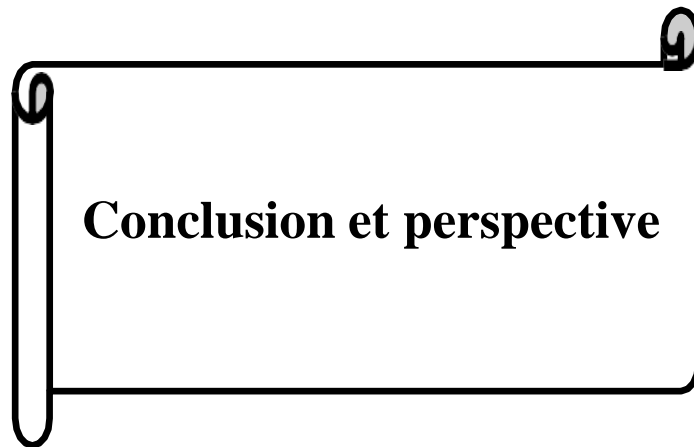
Les protocoles d'extraction adoptée en utilisant quatre solvants. Le rendement obtenu avec le solvant Méthanolique 72h (21,5%) était meilleur que les trois rendements : Méthanolique 24h, Ethanolique et Acétonique avec lesquelles on a enregistré (8,5%), (10,5%) et (18,05%) respectivement. Cette différence de rendement pourrait être causée par les caractéristiques chimiques des solvants utilisés, en particulier leur polarité, l'origine géographique des espèces, temps de séchage, ainsi que les protocoles d'extraction et leurs conditions (**Mechergui et al ;2016**).Les rendements d'extraction méthanolique 24h et Ethanolique étaient similaires a ceux obtenus par (**Ennaji et al 2020**) qui ont enregistré des rendements de 9.98 et 10 % respectivement en utilisant les même solvant et le même protocole avec une espèce d'Origanum majorant cultivé à Casablanca en Maroc. Nos résultats ont largement dépassés celles de (**Ličina et al 2013**) qui ont enregistré avec l'extraction Ethanolique ; Acétonique ; éthyle acétate et diethylether des rendements d'extractions enregistrés 3,18, 1,38, 1,64 et 1,4 respectivement .

L'activité de l'extrait Méthanolique 24h était supérieur a celle de 72h ce qui reflète probablement la composition quantitative et qualitative en substances bioactive de notre extrait Méthanolique 24h ; une hypothese vérifiée avec (**Baycheva et al 2019**);qui ont constaté L'influence des paramètres technologiques

, température, proportion entre matière première/solvant et la durée d'extraction, sur le rendement et la composition de l'extrait Ethanolique d'origan blanc bulgare (*Origanum heracleoticum* L.),ou Le rendement et la teneur en tanins les plus élevés ont été obtenu avec Les extraits Ethanolique de l'origan en utilisant un processus d'extraction de 6 heure. Sachant que la teneur en tanins et en composés phénoliques détermine l'utilisation de la plante médicinale comme agent prophylactique dans la lutte contre le cancer et les maladies cardiovasculaires (**Conforti et al ; 2011**).

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits Ethanolique étaient superposables a celles enregistré avec une autre enquête menée en Irak, il a été rapporté que l'extrait d'O. vulgare à une concentration de 50 et 100 mg/ml présente une activité antibactérienne contre *S. aureus* avec des zones d'inhibition de 27 - 32 mm., suivi par *E. coli* de 25- 29 mm et *P. aeruginosa* de 19 - 28 mm (**Al-Joboury;2015**).L'extrait Acétonique avec lequel on a

enregistré une très faible activité antibactérienne avec les entérobactéries ;des results similaires ontété observée avec Ličina et al (2013) ou la concentration minimale inhibitrice (CMI) était de l'ordre de 10 mg/l pour l'extrait Ethanolique et 20mg/L pour l'extrait Acétonique ;avec une activité anti staphylococcique toujours préservée.



Conclusion et perspective

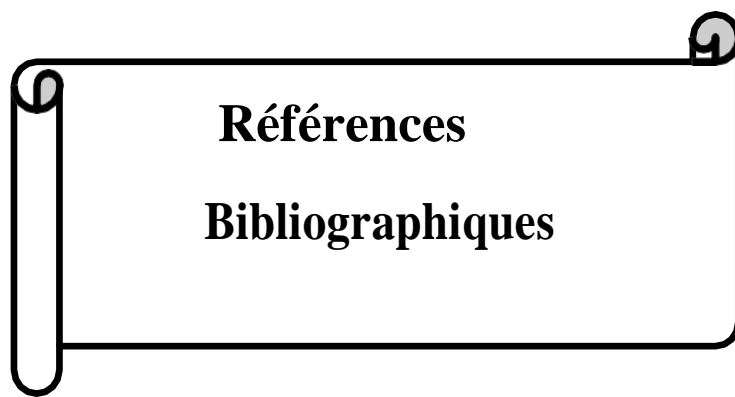
Conclusion et perspectives

L'utilisation intensive et abusive des antibiotiques synthétique conventionnelles vise a vis Des infections bactériennes a entraîné divers problèmes d'antibiorésistance et par conséquent un échec thérapeutique. A travers notre étude de l'activité antibactérienne des substances bioactives d'origine végétale représenté par le genre *Origanum*, on a pu conclure le suivant :

- Le rendement de l'extraction Méthanolique 72h était meilleur que les trois rendements: Méthanolique 24h, Ethanolique et Acétonique.
- Les meilleures activités antibactériennes des extraits ont été enregistrés vise à vis des Staphylocoques suivi des *Pseudomonas* et enfin les *entérobactéries*. Ces derniers avec lesquelles l'extrait Acétonique a enregistré une très faible activité.
- Le temps de macération pour un même protocole possède un impact sur le rendement de l'extraction et sur l'activité antibactérienne. Ce qui impose d'être attentive et méticuleux dans le choix des protocoles d'extraction des plantes médicinales afin d'avoir le meilleur rendement et la meilleure activité antibactérienne.
- Une efficacité enregistrée de l'activité antibactérienne des différents extraits à l'égard des tous les profils d'antibiorésistance a l'exception de l'extrait Acétonique qui a enregistré une faible activité vise avis des profils enregistrés avec les entérobactéries.
- Les extraits alcooliques et Acétonique de notre plante genre *Origanum* peuvent être des sources prometteuses des substances bioactives inhibitrices des bactéries de trois genres avec ces différents profils antibiorésistance.

Il serait intéressant de compléter notre étude par :

- Une caractérisation chimique de nos extraits par différentes techniques.Étude de l'activité antibactérienne en déterminant la CMI et la CMB. Étude de l'efficacité des composés majoritaires sur les souches testes.
-
-



Références

Bibliographiques

A

Abdelaziz, Aboshanab, Yahia, Yassien, & Hassouna, (2021).

Correlation between the antibiotic resistance genes and susceptibility to antibiotics among the carbapenem-resistant gram-negative pathogens. *Antibiotics*, 10(3), 255.

Abraham & Chain (1940). An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature*, 146(3713), 837-837.

Abrassart, J. L. (1988). Mille et une vertus des huiles essentielles. Guy Trédaniel.

Alain, Cokou, Diane, Reine, Alain, Felicien, & Dominique, (2018). Métabolites secondaires et activités biologiques des Extraits de l'écorce de tronc de *Khayasenegalensis*, une plante à usage vétérinaire récoltée au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 23(4), 441-450.

Alimentaire ; vol (24) : 1009-1033.

Sauarez-Jimenez G-M, Burgos-Hernandes A, Ezquerro-Brauer J-M;

Aminov R, (2010). A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for and health. *Phytochemistry reviews*; 11(2):227-244.

and risks for man and animals. The Norwegian Academy of science and Letters; vol 253.

Aslam, B., Wang, W., Arshad, M. I., Khurshid, M., Muzammil, S., Rasool, M. H., ... & Baloch, Z. (2018). Antibiotic resistance: a round-up of a global crisis. *Infection and drug resistance*, 11, 1645.

Au jard, Y. (2017). Infections néonatales bactériennes, mycosiques et parasitaires.

B

Brune ton, (1993). Pharmacognosie: photochimie plantes médicinales (No. 581.634 B7). (2012). Bioactive peptides and Dipeptides With Anticancer Potential: Sources from Medicinal plants and Environmental challenges ; p259-277, 277-283, 45, 55, 65, 75.

Bernhoft A, Siem H, Bjertness E, Meltzer M, Flaten T, E Holmsen; (2010) .brief

Borris, (1996). Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. *Journal of ethnopharmacologie*, 51(1-3), 29-38.

Breijyeh, Z., Jubeh, B., & Karaman, R. (2020). Resistance of gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. *Molecules*, 25(6), 1340.

C

Chafaa, I. (2006). Extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par différents procédés (Doctoral dissertation).

Coculescu, B. I. (2009). Anti microbial resistance induced by genetic changes. *Journal of medicine and life*, 2(2), 114.

Collignon, P., & Beggs, J. J. (2019). Socioeconomic enablers for contagion: factors impelling the antimicrobial resistance epidemic. *Antibiotics*, 8(3), 86. compounds in legumes : pronutritive and antinutritive actions implication for nutrition .

D

Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 74(3), 417-433.

De Oliveira, D. M., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N., Schembri, M. A., Beatson, S. A., ... & Walker, M. J. (2020). Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Clinical microbiology reviews*, 33(3), e00181-19.

Dembele M;(2020). Profil de résistance aux antibiotiques des Entérobactéries isolées des urines au service de bactériologie de l'INSP de 2016 à 2018. Thèse de doctorat : Pharmacie. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako ; 116p. des Frères Mentouri Constantine. diagnostic de laboratoire des infections produites par les entéro bactéries pathogène .

Durvelle, J. P. (1893). Fabrication des essences et des parfums. J. Fritsch. EMC --Pédiatrie, 12 (2) (avril 2017)

E

Essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und*

F

Faber, W. R., & de Vries, H. J. (2016). Togaviruses. In *Mucocutaneous Manifestations of Viral Diseases* (pp. 455-473). CRC Press. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Microbiologie, Université

Fernandes SS, Coelho MS, Salas-Mellado MdIM.,(2019). Bioactive Compounds as

G

Garnier D, (1992). Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris.

Gelpi, A., & Tucker, J. D. (2015). A cure at last? Penicillin's unintended consequences on syphilis Control, 1944–1964. Sexually transmitted infections, 91(1), 70-70.

H

Hamidi A, (2013). Etude phytochimique et activité biologique de la plante *limoniastrumguyonianum*. Mémoire de magister. Ouargla : université kasdimerbah, p86.

Hospitalières : étude moléculaire de la résistance aux antibiotiques. Thèse de doctorat : Ingredients of Functional Foods: Polyphenols, Carotenoids, Peptides From Animal

K

Kiranmai, B., Sandhyarani, M., & Tiwari, A. K. (2023). Water Lily (*Nymphaea nouchali* Burm. f): An Ancient Treasure of Food and Medicine. Pharmacognosy Research, 15(2).

L

La Ruche, G., Goulet, V., Bouyssou, A., Sednaoui, P., De Barbeyrac, B., Dupin, N., & Semaille, C. (2013). Épidémiologie actuelle des infections sexuellement transmissibles bactériennes en France. La presse médicale, 42(4), 432-439.

Leclerc H., Gaillard J and Simonet M, (1995). Microbiologie générale, la bactérie et le

LEULMI, Z. (2015). Les Proteus incriminés dans les infections communautaires.

M

Madigan M., Martinko J and Parker J, (1997). Brockbiology of microorganisms.

Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021). Bacterial antibiotic resistance: The most critical pathogens. Pathogens, 10(10), 1310.

Mancuso, G.; Midiri, A.; Gerace, E.; Biondo, C. Bacterial Antibiotic Resistance: The

Mangin, L. (2016). Antibiotiques et résistances: enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Université De Lorraine.

Marine Animals. *Marin Drugs*; 10(5) :963-986.

McGuinness, W. A., Malachowa, N., & DeLeo, F. R. (2017). Focus: infectious diseases: vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *The Yale journal of biology and medicine*, 90(2), 269.

Meunier, L., & Stoebner, P. E. (2015, June). Item 152–UE 6 Infections cutanéomuqueuses bactériennes et mycosiques. In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* (Vol. 142, No. Suppl. 2, pp. S83-S100).

Monde bactérien. Doin Editeurs, Paris

Most Critical Pathogens. *Pathogens* 2021,10, 1310.

Mulani, M. S., Kamble, E. E., Kumkar, S. N., Tawre, M. S., & Pardesi, K. R. (2019). Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: a review. *Frontiers in microbiology*, 10, 539.

Muzquiz M, Varela A, Burbano C, Cuadrado C, Guillamon E;(2012). Bioactive

N

Napoca C. 2012 . Enterobacteriaceae –caractères généraux , classification .

Nauciel C, (2000). Bactériologie médicale, 3^{ème} édition. Masson, p.5, 11, 17,21, 35,

Ng WJ, Shit CS, Ee KY, Chai TT. Plant natural products for mitigation of antibiotic

O

Osman, K., Evangelopoulos, D., Basavannacharya, C., Gupta, A., McHugh, T. D., Bhakta, S., & Gibbons, S. (2012). An antibacterial from *Hypericum macrosepalum* inhibits ATP-dependent MurE ligase from *Mycobacterium tuberculosis*. *International journal of antimicrobial agents*, 39(2), 124-129.

P

Pateiro, M., Vargas, F. C., Chinchá, A. A., Sant'Ana, A. S., Strozzi, I., Rocchetti, G., ... & Lorenzo, J. M. (2018). Guarana seed extracts as a useful strategy to extend the shelf life of pork patties: UHPLC-ESI/QTOF phenolic profile and impact on microbial inactivation, lipid and protein oxidation and antioxidant capacity. *Food Research International*, 114, 55-63.

Plant Sources New. Bioactive Compounds .Vol 14 : P129- 142.plants : Influence of Environmental factors on the content of secondary Metabolites.

R

Rahani, J., Nouani, M., & Haouchine, A. (2022). Etude de la résistance bactérienne dans les infections respiratoires Et évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits bruts de trois plantes médicinales à savoir: *Inulaviscosa* L., *Myrtuscommunis* L. et *Salviaofficinalis* L (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Rammelkamp, C. H., & Maxon, T. (1942). Resistance of *Staphylococcus aureus* to the Action of Penicillin. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 51(3), 386-389.

résistance. SustainAgricRev. 2021;49:57–91.

review on bioactive compounds in plants. In: *Bioactive compound in plants –benefits*

S

Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *BioMedresearch international*, 2016.

Stapleton, P. D., & Taylor, P. W. (2002). Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanisms and modulation. *Science progress*, 85(1), 57-72.

T

Technologic, 36, 679-684. the future. *Frontiers in microbiology*, 1, 134

Tortora, g. et al. (2005). Introduction à la microbiologie. DUNOD, Paris.

Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2012). Introduction à la microbiologie (2e éd). Saint-Laurent (QC), Éditions du Renouveau pédagogique.

V

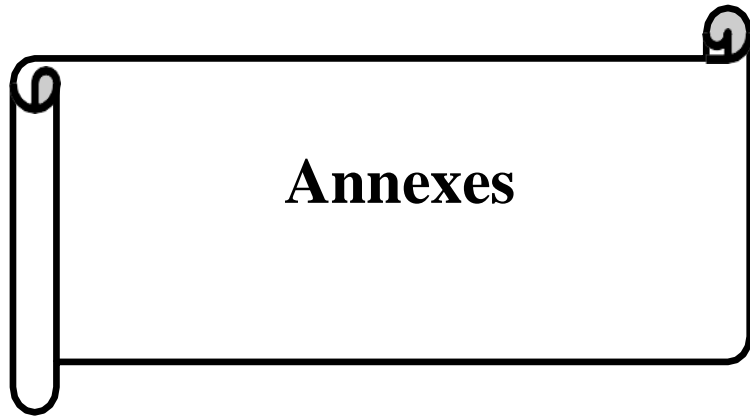
Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. PT

W

World Health Organization. (2019). World Health Organization Ten threats to global health in 2019. Retrieved on September, 22, 2021.

Z

Zhang, Chen F , Mingfu ;(2015). Origine substances bioactives. Manuel de chimie Borges Cv ,Minatel IO, Gomez-Gomes HA, Pereira Lima GP;(2017). Médicinal.



Annexe 01 : Composition des milieux de culture utilisées□ **Gélose nutritive****Formule en g/l d'eau distillée**

Tryptone	5g
-Extrait de viande	3g
Agar bactériologique¹	5g
PH	7.0+0.2

□ **Gélose Hektoën****Formule en g/l d'eau distillée**

Digestif peptique de viande	12.0g
Extrait de levure	3.0g
Lactose	12.0g
Saccharose	12.0g
Salicin	2.0g
Sels biliaries.	9.0g
Chlorure de sodium	5.0g
Thiosulfate de sodium	5.0g
Citrate d'ammonium ferrique	1.5g
Blue de bromothymol	0.065g
Fuchin acide.	0.10g
Agar bactériologique	15g
PH	7.5+0.2
150ML	2-8°C

Gélose Chapman :**Formule en g/l d'eau distillée**

Digestif pancréatique de caséine	5.0g
Extrait de viande.	1.0g
Digestif protéique de tissu animale	5.0g
D-Mannitol	10.0g
Chlorure de sodium	75.0g
Rouge de phénol	0.025g

Agar bactériologique	15.0g
PH	7+0.2g
180MI	2-8°C

Gélose Mueller Hinton

-Formule en g/l d'eau distillée

Acide caséine peptone	17.5g
Infusion de bœuf	2.0g
Amidon	1.5g
Agar bactériologique	17.0g
PH	7.3+0.2
180ml	2-8°

