



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique Université de Echahid Chiekh LaarbiTébessi –Tébessa-



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

Evaluation de l'activité des extraits bioactifs d'une plante médicinale
genre *Laurus* sur des Staphylocoques issus de différentes pathologies
infectieuses

Présentée par :

Melle. Fares Afaf

Melle. Khallas Louiza

Soutenu le : 08/06/2023

Devant le jury

Benhadj Mabrouka	M.C.A	Université Laarbi Tébessi	Présidente
Boukoucha Mourad	M.C.A	Université Laarbi Tébessi	Rapporteur
Zwawi Nassim	M.C.B	Université Laarbi Tébessi	Examineur

Année Universitaire

2022/2023

Remerciements

Au terme de notre travail, nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères au bon Dieu pour la grâce de la santé, la patience et persévérance qu'il nous a données pour réaliser ce mémoire.

Avant d'entamer ce travail qui représente la fin d'un parcours d'étude riche en expérience humaine, et académique, il nous apparaît opportun de remercier chaleureusement toute l'équipe d'enseignants qui s'est rendue disponible pour nous au cours de ces cinq ans.

Nos plus vifs remerciements s'adressent en premier lieu à notre encadreur Dr. BOUKOUCHA Mourad (Maître de conférences A au Département de Biologie appliquée, Université de Tébessa) à sa sollicitude, sa patience, surtout ces judicieux conseils et sa coopération le long de cette période.

Nous tenons également à remercier Dr BENHADJ Mabrouka (Maître de conférences A au Département de Biologie appliquée, Université de Tébessa)

D'avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions aussi à Dr ZWAWI Nassim (Maître de conférences B au Département de Biologie Appliquée, Université de Tébessa) d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous profitons de l'occasion pour dire, grand merci à

Dr BOUKOUCHA-Bouguerra Nadia

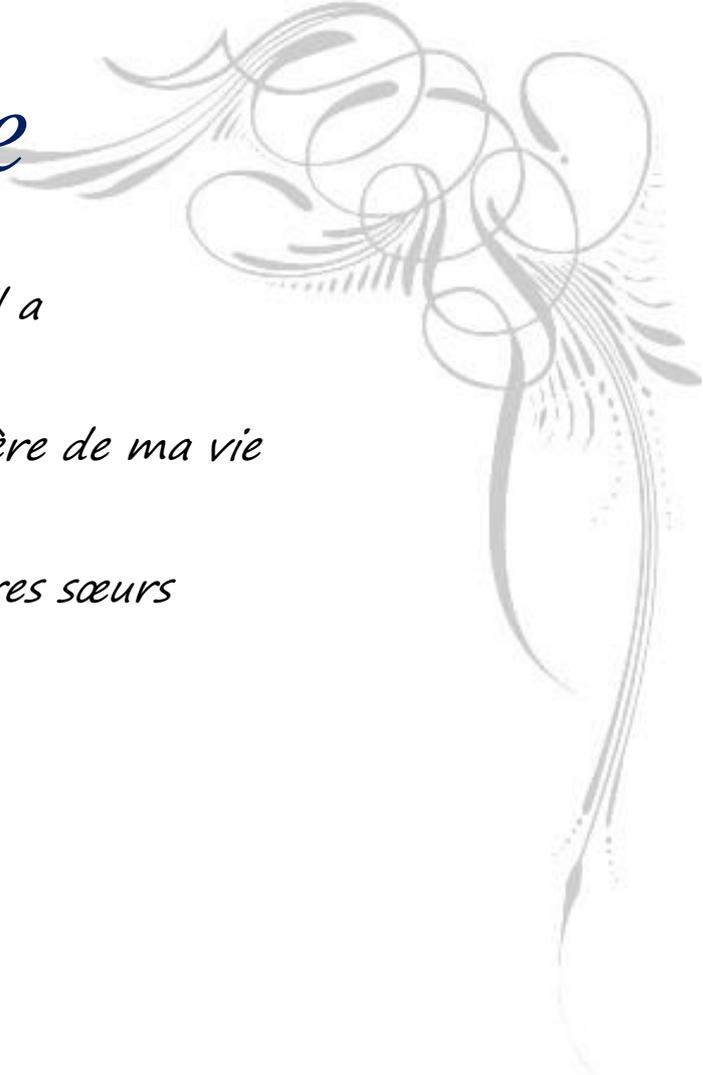
Mr FARES Mohamed Amine Doctorant à l' Institut des Sciences Agronomiques et Vétérinaires (I.S.A.V) Université de Souk Ahras

Pour leurs aides, les multiples conseils et l'encouragement

Sans oublier le laboratoire ibn rochd et tous leurs biologistes pour leurs soutien et leurs efficacités ont fortement contribué à la réalisation de ce travail.

Enfin à titre plus personnel, nous tenons à témoigner notre reconnaissance à nos parents, qui ont toujours cru en nous, et qui nous ont soutenues dans ce projet de mémoire et tout au long de ces nombreuses années d'études.

Dédicace



Je dédie ce modeste travail a

Mes chers parents la lumière de ma vie

Mon cher frère et mes chères sœurs

Toute la famille

Ma binôme Louisa

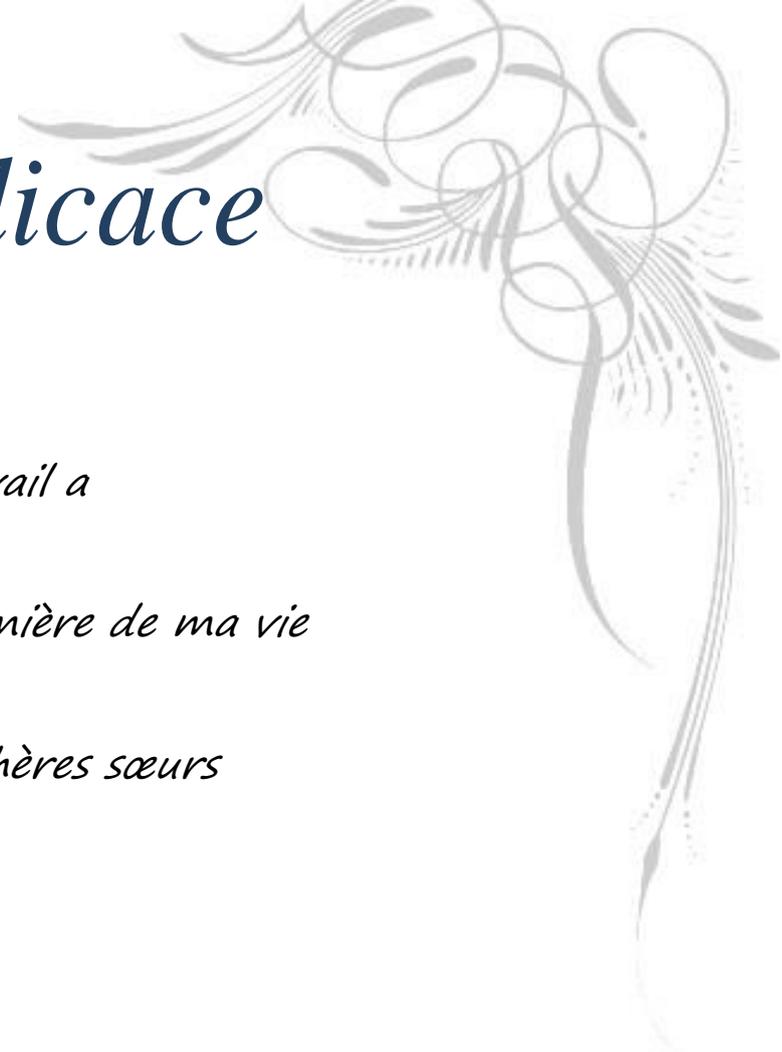
Mes amis et copines

Les camarades de l'université de cheikh Laarbi tebessi

Afaf



Dédicace



Je dédie ce modeste travail a

Mes chers parents la lumière de ma vie

Mon cher frère et mes chères sœurs

Toute la famille

Ma binôme Afaf

Mes amis et copines

Louisa



Résumé

La résistance des Staphylocoques aux antibiotiques a progressivement augmenté en pathologie infectieuse humaine causant un échec thérapeutique. Par conséquent, des stratégies antimicrobiennes alternatives sont devenu 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 *Laurus* (rand) commercialisé dans la commune de Bir el Ater wilaya de Tébessa, sur des bactéries pathogènes appartenant au genre : *Staphylococcus*. Le rendement de l'extraction acétonique (16%) était meilleur que les deux rendements : méthanolique 75% et methanolique absolu, avec lesquelles on a enregistré (12%) et (2%) respectivement. L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits a été réalisé par méthode des puits sur milieu gélosé. Une série de concentrations : (10mg/100ul), (5mg/100ul), (2,5mg/100ul) et (1,25mg/100ul) a été testée sur les différents isolats. Les résultats obtenus ont révélé une excellente ; très bonne et bonne activité des trois extraits avec des intervalles de diamètres (>20mm) (>15 ; ≤ 20mm) et (>10 ; ≤ 15mm) respectivement vise à vis tous les isolats des Staphylocoques testés. L'étude de l'impact facteur concentration de solvants et temps de macération a permis de déduire que le rendement de l'extraction methanolique (75% ,24 h) (12%) était meilleur que le rendement méthanolique (absolu, 5jours) avec lequel on a enregistré (2%). Par contre, l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (absolu, 5jours) était meilleur que celle méthanolique (75% ,24 h). 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.

Les extraits alcooliques et acetoniques de notre plante genre *Laurus* peuvent être des sources prometteuses des substances bioactives inhibitrices des bactéries de genre *Staphylococcus* avec ces différents profils d'antibiorésistances.

Mots Clés : *Laurus*, Extraits alcooliques, Extrait acétonique, Rendement, Activité antibactérienne, Impact protocol d'extraction, profil d'antibiorésistance, Etude comparative

Abstract

The resistance of bacteria to antibiotics is the leading cause of therapeutic failure in infectious diseases. Therefore alternative antimicrobial strategies have become mandatory. 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 alcoholic and acetic bioactive extracts, obtained by different protocols, of a medicinal plant of the *Laurus* (rand) type marketed in the commune of Bir el Ater, wilaya of Tébessa, on pathogenic bacteria belonging to the genus: *Staphylococcus*. The yield of the acetic extraction (16%) was better than the two yields: methanolic 75% and methanolic absolute, with which we recorded (12%) and (2%) respectively. The evaluation of the antibacterial activity of the various extracts was carried out by method of wells on agar medium. A series of concentrations: (10mg/100ul), (5mg/100ul), (2.5mg/100ul) and (1.25mg/100ul) was tested on the different isolates. The results obtained revealed an excellent; very good and good activity of the three extracts with diameter ranges (>20mm) (>15; ≤ 20mm) and (>10; ≤ 15mm) respectively targets all the *Staphylococci* isolates tested. The study of the impact factor concentration of solvents and maceration time made it possible to deduce that the yield of the methanolic extraction (75%, 24 h) (12%) was better than the methanolic yield (absolute, 5 days) with which we recorded (2%). On the other hand, the antibacterial activity of the methanolic extract (absolute, 5 days) was better than that of the methanolic (75%, 24 h). The comparative study of the antibacterial activity of the different extracts with those of the antibiotics tested made it possible to record excellent, very good and good activities with regard to all the antibiotic resistance profiles.

The alcoholic and acetic extracts of our plant genus *Laurus* can be promising sources of bioactive substances that inhibit bacteria of the genus *Staphylococcus* with these different antibiotic resistance profiles.

KEY WORDS: *Laurus*, Alcoholic extracts, Acetone extract, Yield, Antibacterial activity, Impact extraction protocol; Antibiotic resistance profile, Comparative study.

ملخص

ان مقاومة Staphylocoques للمضادات الحيوية هي السبب الرئيسي للفشل العلاجي للأمراض المعدية. لذلك أصبحت الاستراتيجيات البديلة المضادة للميكروبات إلزامية. لسنوات عديدة ، كانت النباتات الطبية من المصادر المهمة لجزيئات فعالة بيولوجية من مضادات الميكروبات. في هذا الاتجاه كان لدراستنا الأهداف التالية: دراسة النشاط المضاد للبكتيريا من نوع المكورات العنقودية Staphylococcus للمستخلصات الكحولية والأسيتونية النشطة بيولوجيًا، والتي تم الحصول عليها بواسطة بروتوكولات مختلفة ، لنبات طبي من نوع رند (Laurus) يتم تسويقه من قبل بائع الاعشاب في منطقة بئر العاتر ولاية تبسة على البكتيريا المسببة الأمراض التي تنتمي الى المكورات العنقودية، كان مردود الستخالص الأسيتوني. (16%) أفضل من مردود المستخلصين: الميثانول 75% والميثانول المطلق والذي سجلنا معهما (12% و 2%) على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المختلفة بطريقة الثقب على وسط جيلوزي. اين سلسلة من الترايز: 10 مجم / 100 مايول، (0.5 مجم) / (100 مايول) ، (0.25) مجم / (100 مايول) و (0.125 مجم) / 100 مايول) تم اختبارها على العينات المختلفة. أظهرت النتائج تأثيراته ممتازة؛ جيدة جدًا وجيدة للمستخلصات الثالثة بأقطار مداها (> 20 مم > 15 مم و > 10 مم ؛ 15 مم) على التوالي. أتاحت دراسة تأثير عملي تركيز محلول الستخالص ومدة النقع على مردود المستخلص الميثانولي 75% (12%) كان أفضل من العائد الميثانولي المطلق الذي سجلناه (2%). من ناحية أخرى، كان النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الميثانولي المطلق أفضل من نشاط الميثانول 75% مع كل العينات المختبرة. أتاحت الدراسة المقارنة للنشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المختلفة مع المضادات الحيوية المختبرة تسجيل أنشطة ممتازة وجيدة جدًا وجيدة مع جميع سلسلة العينات باختلاف سمات مقاومتها المضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: Laurus، مستخلصات كحولية، خالصة الاسيتون، المردود، البكتيريا النشطة المضاد للبكتيريا، خصائص مقاومة المضادات الحيوية، دراسة مقارنة.

Table des matières

Remerciement

Dédicace

ملخص

Abstract

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Table de matière

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I. Notions générales sur des *Staphylocoques*.

1. Historique.....	5
2. Taxonomie	6
3. Habitats	6
4. Caractères bactériologiques	7
4.1. Morphologiques et caracteres cultureux	7
4.2. Caractères biochimiques	8
5. Facteurs de virulence et physiopathologie.....	9
5.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	9
5.1.1. Expression des déterminants de la virulence chez <i>S. aureus</i>	9
5.1.2. Facteurs de surface cellulaire	9
5.1.3. Facteurs sécrétés (exotoxines).....	10
5.1.4. Superantigènes	10
5.1.5. Toxines cytolytiques (formant des pores).....	10
5.1.6. Diverses exoenzymes	10
5.1.7. Protéines diverses.....	10
5.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	11
5.3. <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	12

Chapitre II Pathologies infectieuses a *Staphylococcus* et antibiothérapie

1. Pathogénicité et pouvoir pathogène des Staphylocoques	14
1.1 Infections liées à <i>Staphylococcus aureus</i>	14
1.1.1 Infections suppuratives à <i>staphylocoques</i>	14

1.1.2. Infections superficielles cutanéomuqueuses	14
1.1.3. Infections profondes.....	15
1.1.4. infections du tractus respiratoire.....	16
1.1.5. infections urinaires.....	16
1.1.6. Infections du système nerveux central à Staphylocoques	16
1.1.6. Infections endovasculaires et valvulaires cardiaques à Staphylocoques	16
1.1.7. Infection digestive à <i>Staphylococcus epidermidis</i>	17
1.1.8. Toxi-infections à Staphylocoques	18
2. Antibiothérapie antistaphylococcique	18
2.1. Résistance aux antibiotiques	20
2.1.1. Mécanismes de résistance aux Beta lactamine	20
2.1.2. Résistance à la vancomycine	21
2.1.3. Résistance aux aminosides.....	21
2.1.4. Résistance à la streptogramine.....	22
2.1.5. Résistance à la quinolone.....	22
2.1.6. Résistance au macrolide.....	23
2.1.7. Résistance à la fusidine	23
3. Développement de la résistance des <i>Staphylococcus</i> aux antibiotiques	25
4. Conséquences de résistances des <i>Staphylococcus</i> aux antibiotiques	25

Chapitre III Alternatives d'origine végétale de l'antibiothérapie antistaphylococcique

1. Plante médicinale	28
1.1. Historique.....	28
1.2. Définition des plantes médicinales.....	28
1.3. Usages traditionnels	29
2. Substances bioactives.....	29
2.1. Sources des substances bioactives	29
2.1.1. Source animale de substances bioactives.....	30
2.1.2. Source végétale de substances bioactives	30
a. Composition chimiques des substances bioactives.....	30
a.1. Les composés bioactifs.....	30
a.1.1. Les composés phénoliques.....	31
a.1.1.1. Les non flavonoïdes.....	31
a. Les acides phénoliques.....	31
b. Les coumarines.....	31
c. Les lignines.....	31

a.1.1.2. Les flavonoïdes.....	31
a.1.1.3.Les alcaloïdes.....	32
3. Présentation des huiles essentielles	32
3.1. Définition des huiles essentielles	32
3.2. Compositions chimique des huiles essentielles	33
3.3. Activités biologiques des huiles essentielles	34
4. Méthodes d'extraction	35
4.1. Extraction par L'hydrodistillation	35
4.2. Extraction par micro-onde	35
4.4. Extraction l'expression à froid	35
4.5. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	36
4.6. Extraction assistée par ultrasons	36
4.7. Extraction Soxhlet ou extraction continue à chaud.....	36
4.8. Extraction au solvant.....	36
Partie expérimentale.....	38
1. Matériel et méthodes.....	38
1.1. Cadre et objectifs de l'étude	38
2. Matériel	38
2.1. Matériel biologique	38
2.1.1. Matériel végétal.....	38
2.1.1.1. Présentation de la plante médicinale.....	38
2.1.1.2. Description botanique	40
2.1.2. Souches bactériennes	40
2.1.3 Solvants.....	41
2.1.4 Milieux de culture	41
2.1.5. Appareillages	42
2.1.6. Verreries et petits consommable.....	42
2.1.7. Disques d'antibiotique antistaphylococcique.....	42
3. Méthodes.....	43
3.1. Conservation des souches	43
3.2. Extraction des substances bioactives à partir de la plante	44
3.2.1. Protocole d'extraction.....	44
3.2.1.2. Extraction méthanolique absolu.....	44
3.2.1.3. Extraction acétonique.....	44

3.3. Calcul du rendement de l'extraction	47
3.4. Évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits	47
3.4.1. Récupération des souches conservées et préparation de la suspension bactérienne ..	47
3.4.2. Préparation de la solution mère et des différentes dilutions des extraits	48
3.4.3. Étude de l'activité antibactérienne des extraits par la méthode des puits	49
3.4.4. Lecture et interprétation des résultats	50
3.4.5. Étude de la sensibilité des souches bactériennes de Staphylocoques aux antibiotiques	50
Résultats	52
1. Récupération des souches bactériennes	53
2. Extraction des substances bioactives de la plante <i>Laurus</i> avec différents solvants	53
2.1. Aspect macroscopique de différents extraits	53
1.2. Rendement de l'extraction effectuée avec différents solvants	55
1.3. Activité antibactérienne des différents Extraits	56
1.3.1. Activité antibactérienne observé avec l'extrait méthanolique absolu	56
1.3.2. Activité antibactérienne observé avec l'extrait méthanolique 75%	57
1.3.3. Activité antibactérienne observé avec l'extrait acétonique	58
1.3.4. Activité antibactérienne observé avec la suspension mère	58
1.3.5. Activité antibactérienne observé avec la dilution 1/2	59
1.3.6. Activité antibactérienne observé avec la dilution 1/4	60
1.3.7. Activité antibactérienne observé avec la dilution 1/8	61
1.3.8. Etude comparative entre les deux protocoles d'extraction d'extrait méthanolique absolu et méthanolique 75%	62
1.3.9. Etude comparatvie de l'activité des extraits et les antibiotiques	62
1.3.10. Détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques	64
1.3.11. Validation des testes	64
Discussion	66
Conclusion et Perspectives	68
Références bibliographiques	70
Annexes	

- **Liste des tableaux**

- **Tableau 1.** Taxonomie des Staphylocoques 6
- **Tableau 2.** Caractères biochimiques des *Staphylococcus aureus*8
- **Tableau 3.** Antibiothérapie antistaphylococcique19
- **Tableau 4.** Antibiotiques antistaphylococcique et leurs moded'action.....23
- **Tableau 5**.....29
- **Tableau 6.** Classification botanique de *Laurus* d’après40
- **Tableau 7.** Souches de Staphylocoques collectées à partir des différentes localisations infectieuses..... 43
- **Tableau 8.** Caractères organoleptique de différents Extraits (méthanolique absolu , methanolique 75 % et acétonique)51
- **Tableau 9.** Caractères organoleptiques de différents Extraits (méthanolique absolu, methanolique 75 % et acétonique.....56
- **Tableau10.** profils de sensibilité des souches bactérienne aux antibiotiques et aux extraits bioactifs65

Liste des figures

- **Figure 1.** Coques de *Staphylococcus aureus* disposés en grappe de raisins (G x 100) 07
- **Figure 2.** Colonies de *S.aureus* (en haut) et Colonies *S.épidermidis* (en bas)..... 08
- **Figure 3.** Sycosis 14
- **Figure 4.** Furoncle 15
- **Figure 5.** Purpura pendant l'endocardite..... 17
- **Figure 6.** Desquamation distale après syndrome de choc toxique.....18
- **Figure 7.** Distribution des lauracées à travers le monde 41
- **Figure 8.** Arbre de laurier41
- **Figure 9.** Feuilles fraîches de Laurier.....41
- **Figure 10.** Feuilles sèches de Laurier 41
- **Figure 11.** Milieux de culture utilisées 44
- **Figure 12.** Disques d'antibiotiques Antistaphylococcique 45
- **Figure 13.** Différentes étapes de conservation des souches bactérienne collectées45
- **Figure 14.** Protocole d'extraction méthanolique absolu des feuilles de la plante *Laurus* 47
- **Figure 15.** Protocole d'extraction méthanolique 75% et acétonique des feuilles de la plante *Laurus*.....48
- **Figure 16.** Différentes étapes de l'extraction de la plante *Laurus*..... 49
- **Figure 17.** Différents étapes de récupération des souches bactérienne conservées 50
- **Figure 18.** Préparation de la suspension bactérienne 50
- **Figure 19.** Solution mère et différents dilutions des extraits préparées50
- **Figure 20.** Méthodes des puits et applications des extraits51
- **Figure 21.** Souches *Staphlococcus* utilisées 55
- **Figure 22.** Aspect macroscopique des extraits préparées..... 55
- **Figure 23.** Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique absolu 58
- **Figure 24.** Zones d'inhibition de l'extrait méthanolique absolu sur quelques souches testées59
- **Figure 25.** Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique 75%.....59
- **Figure 26.** Zones d'inhibition de l'extrait méthanolique sur quelques souches testées..... 60
- **Figure 27.** Antibactérienne de l'extrait acétonique vis-à-vis des souches testée.....60
- **Figure 28.** Zones d'inhibition de l'extrait acétonique sur quelques souches testées..... 61

- **Figure 29.** Activité antibactérienne de suspension mère de différents extraits vis-à-vis des souches testée61
- **Figure 30.** Activité antibactérienne de dilution 1/2 de différents extraits vis-à-vis les souches testées62
- **Figure 31.** Activité antibactérienne de dilution 1/4 de différents extraits vis-à-vis des souches testée63
- **Figure 32.** Activité antibactérienne de dilution 1/8 de différents extraits vis-à-vis les souches testée 63
- **Figure 33.** Etude comparative de l'activité antibactérienne de deux extraits méthanolique absolu et méthanolique 75%64
- **Figure 34.** Activité antibactérienne des antibiotiques antistaphylococcique vis-à-vis des souches testées..... 65
- **Figure 35.** Antibiogramme antistaphylococcique.....66
- **Figure 36.** Validation des tests.....67

Liste des abréviations

- **S.aureus** : *Staphylococcus aureus*
- **S.epidermidis** : *Staphylococcus epidermidis*
- **S.saprophyticus** : *Staphylococcus saprophyticus*
- **SARM** : *Staphylococcus aureus* multi résistante
- **SE** : Enterotoxine Staphylocoquoccique
- **VCS** : Colonies des variants staphylococcique
- **SCN** : *Staphylococcus* a coagulase negative
- **TSS** : Syndrome de choc toxique
- **SCIN** : Inhibiteurs des protéines Staphylococcique
- **CHIPS** : Protéine inhibitrice de la chimiotaxie de *Staphylococcus aureus*
- **SARM** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline
- **IVRI** : Infections des voies respiratoires inférieures



Introduction

Introduction

Les Staphylocoques est un groupe de bactéries impliquée dans la pathologie infectieuse ces derniers sont la deuxième cause de mortalité humaine dans le monde (Cosgrove et al., 2003; Kopp et al., 2004 ; Koppet Armstrong, 2004). L'espèce *Staphylococcus aureus* chef de fil du genre *Staphylococcus* est un pathogène humain qui peut déclencher diverses maladies infectieuses, telles que les infections de la peau et des tissus mous, endocardite, ostéomyélite, bactériémie et pneumonie mortelle (Lowy,1998 ; Humphreys,2012). L'espèce *Staphylococcus aureus* a été découverte pour la première fois en 1880 à Aberdeen, en Écosse, par un chirurgien Alexander Ogstonchez un patient souffrant de plaies ulcérées. *Staphylococcus aureus* appartient au genre *Staphylococcus*, *Firmicutes* ; a coloration de Gram positif, peut produire un pigment jaune doré et décompose le mannitol (Tayeb-Fligelman et al., 2017).

Au cours des dernières décennies, la résistance de *S. aureus* aux antibiotiques a progressivement augmenté avec une parution d'une résistance à la méthicilline (SARM) dont les mécanismes sont très complexes et qui confère la résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques ; pénicillines ; macrolides, fuoroquinolones, aminoglycosides, tétracyclines et lincosamides (Mediavilla et al., 2012 ; Lakhundi et Zhang, 2018). Le SARM est devenu le plus fréquemment identifié dans de nombreuses régions du monde, y compris l' Europe, les États-Unis, Afrique du Nord, Moyen-Orient et Asie de l'Est;ce qui entraîne souvent l'échec du traitement antibiotique avec augmentation de la morbidité et de la mortalité(Algammal et al 2020). La situation alarmante de la résistance aux antimicrobiens a été reconnue par l'Organisation mondiale de la santé, qui a qualifié la résistance aux antibiotiques comme l'une des trois menaces de santé publique les plus importantes du 21e 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-organismeset 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, 2022). Dans ce sens et pour contribuer dans la lutte contre les maladies infectieuses causées par *Staphylococcus* avec son chef de file *Staphylococcus aureus*, notre travail a eu pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits bioactifs alcooliques et acetonique d'une plante médicinale du genre *Laurus* (Nom commun: rand) sur une gamme de *Staphylococcus* collectés à partir de différentes pathologies infectieuses. Ce qui a incité à mener une étude portant principalement sur:

- ❖ Evaluation du rendement d'extraction après macération avec les différents solvants alcooliques et acetoniques et évaporation par Rotavap.
- ❖ Appréciation de l'activité antibactérienne par méthode de diffusion sur gélose.
- ❖ Étude de l'impact du protocole d'extraction sur le rendement d'extraction ainsi que sur l'activité antibactérienne.
- ❖ Evaluation comparative de l'activité antibactérienne des extraits par rapport à celles des anti-Staphylococciques.

Notre travail a été organisé comme suivant:

- ❖ Dans la première partie de ce mémoire, nous avons présenté une synthèse bibliographique en trois chapitres. Le premier chapitre présente une généralité sur les Staphylocoques et leur taxonomie; le second chapitre englobe quelques notions importantes sur les antibiotiques antistaphylococciques et leur antibioresistances et le dernier, portera sur les sources des molécules bioactives d'origine végétale.
- ❖ La deuxième partie est la partie expérimentale qui comporte les tests et les protocoles utilisés pour atteindre les objectifs de notre travail ; les résultats obtenus suivis d'une discussion et enfin une conclusion et perspectives des travaux



Partie 01

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Notions générales sur *des* *Staphylocoques*

1. Historique

Les *staphylocoques* sont une famille de bactéries cocci à Gram positif, les *Staphylococcaceae*, qui appartiennent à l'ordre des bacillales. Le terme "*staphylocoque*" a été formé à partir des mots grecs "staphyle", signifiant grappe de raisin, en référence à leur capacité à former des grappes microscopiques ressemblant à des raisins, et "coccus", qui signifie grain ou baie (Crossley et al., 2009).

L'espèce *Staphylococcus aureus* est l'un des premiers pathogènes bactériens identifiés et est responsable d'un large éventail d'infections, y compris l'impétigo, la folliculite, les abcès cutanés superficiels et profonds, les infections des plaies, l'ostéomyélite, l'arthrite suppurée, la pneumonie, l'emphysème pleural, la méningite, la septicémie et l'endocardite (Melish et Glasgow, 1970). En plus de ces affections courantes, *S. aureus* peut également causer des affections plus graves, telles que le syndrome de choc toxique, le syndrome de la peau ébouillantée et l'intoxication alimentaire... Ces infections peuvent être contractées par une contamination croisée dans les hôpitaux et les établissements de soins de santé, ainsi que par la consommation de nourriture contaminée. Il est important de traiter les infections à *Staphylococcus aureus* rapidement pour prévenir leur propagation et éviter des complications graves (Melish et Glasgow, 1970).

Un autre agent pathogène humain courant est *Staphylococcus saprophyticus*, qui provoque des infections des voies urinaires chez les jeunes femmes (Sakinç et al., 2007). En 1878, Koch a différencié les cocci à Gram positif et a remarqué que la présence de grappes de cocci à Gram positif était liée à différentes maladies telles que les abcès. En 1884, Rodenbach a différencié les espèces de staphylocoques en se basant sur leur pigmentation coloniale (Le Minor et Veron, 1990). Les espèces les plus pathogènes ont été découvertes en produisant un pigment doré, tandis que les staphylocoques moins pathogènes formaient des colonies blanches appelées *S. albus*, aujourd'hui appelées *Staphylococcus epidermidis* (Crossley et al., 2009). Parmi les souches de *Staphylococcus albus* se trouvaient également de nombreux autres staphylocoques à coagulase négative qui ne parvenaient pas à produire de pigment.

En 1880, Alexander Ogston a découvert qu'un coccus formant un amas était la cause de certains abcès pyogènes chez l'homme. Lorsqu'il a injecté le pus humain contenant des Staphylocoques à des souris, cela a produit des abcès. Cependant, lorsque le pus était chauffé ou traité avec du phénol, il ne produisait pas d'abcès. En 1882, Ogston a nommé l'organisme "Staphylocoque". Pasteur était parvenu à des conclusions similaires peu après au même moment (KB et al., 2009).

Le test de coagulase a fourni plus tard une classification des staphylocoques plus précise que la production de pigments, dans laquelle un test de coagulase positif, qui a confirmé l'identité de *S. aureus*, était beaucoup mieux corrélé à la pathogénicité (**Le Minor et Veron, 1990**).

Staphylococcus hémolitique est une espèce moins courante mais importante en raison de sa résistance aux antibiotiques, y compris aux glycopeptides et au linézolide (**Tarazon et al., 2007**). De nombreuses autres souches de staphylocoques à coagulase négative ont été identifiées, telles que *Staphylococcus schleiferi* et *Staphylococcus lugdunensis*, qui peuvent causer diverses infections nosocomiales (**Voneiff et al., 2001 ; Voneiff et al., 2002**). En outre, certaines souches de *S. aureus* peuvent produire des toxines spécifiques, telles que la toxine de choc toxique et les entérotoxines, qui peuvent provoquer des maladies graves chez l'homme (**Omoe et al., 2018**). La compréhension de la diversité et de la virulence de ces souches de Staphylocoques est donc importante pour prévenir et traiter les infections associées à ces bactéries.

2. Taxonomie

Le genre *Staphylococcus* regroupe 35 espèces. En pratique médicale courante, les espèces les plus fréquentes (infection ou colonisation) sont *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermitis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus saprophyticus* et *Staphylococcus warneri* (**Bes, M., et Brun, Y, 2002**)

Tableau1. Taxonomie des Staphylocoques

Règne	Bactéries
Phylum	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacilalles</i>
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>

3. Habitats

L'espèce *Staphylococcus aureus* est un germe ubiquitaire, son réservoir naturel est l'homme et les animaux à sang chaud (**Jean et Jean, 2002**). On les trouve à l'état normal

dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles, au niveau des périnée, ou des aisselles, c'est un commensale de la peau et des muqueuses (Eyque et Montagnier, 1998).

Staphylococcus epidermidis il s'agit d'une bactérie commensale de l'humain, typique de la flore de la peau est isolé principalement des épithéliums humains et colonise principalement aisselles, tête et narines (kloos et Musselwhite, 1975). *Staphylococcus saprophyticus* sur la peau et les muqueuses, mais peu aussi avoir une origine différente, issue de l'environnement (l'eau, l'air, le sol) et parfois dans les aliments ou sur les objets (Raz et al., 2005).

4. Caractères bactériologiques

4.1. Morphologiques et culturaux

Staphylococcus aureus est une bactérie en forme de sphère ou coque, avec un diamètre compris entre 0,5 et 1,5 μm et mobile dépourvu de spores et de capsule. Ils sont le plus souvent groupés en amas dit en grappe de raisins. Les Staphylocoques sont des aéro-anaéro facultatifs et non exigeants (El Kouir, 2003). L'espèce *Staphylococcus aureus* se développe en concentration forte en NaCl (halophile), cette capacité est mise a profit dans le milieu de culture sélectif hypersalé de Chapman pour l'isoler d'un prélèvement polymicrobien. Après 24 à 48h d'incubation, des colonies (de 1 à 2 mm de diamètre) apparaissent, elle sont lisses, luisantes et bombées, pigmentées en jaune or, d'où l'appellation (Staphylocoque doré) (Garrity, 2001). sur gélose ordinaire en aérobiose, lisse et brillante : de type Smooth En milieu liquide. *S.aureus* produit dans le bouillon un trouble homogène le long du tube. elle produit une coagulase, ce qui la distingue des autres espèces de ce genre appelées Staphylocoque a coagulase négative (Garrity, 2001 ; Willey et al., 2010).



Figure 1. Coques de *Staphylococcus aureus* disposés en grappe de raisins (G x 100) (Willey et al., 2010)



Figure 2. Colonies de *S. aureus* (en haut) et Colonies *S. épidermidis* (Pascale, 2013)

4.2. Caractères biochimiques

Les Staphylocoques produisent une catalase mais pas d'oxydase ainsi, les souches sont : indole -, acétone +, uréase +, réduisent le tellurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque a partir de l'arginine (Larpent, 2000 ; Federighi, 2005). Le critères de base de leur classification est la production d'une thermonucléase et d'une coagulase. Il ya 3 espèces productrice de coagulase : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus*, produit ainsi de l'hémolyse bêta. L'espece *Staphylococcus aureus* peut produire de nombreuses enzymes : protéase, coagulase, lypase liée au (clumping-factor), coagulase libre (Bourgeois et al., 1988).

Tableau 2. Caractères biochimiques des *Staphylococcus aureus* (Garrity, 2001 ; Chessa et al., 2015)

Caractères	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus épidermidis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
Oxydase	-	-	-
Catalase	+	+	+
Coagulase	+	-	-
Fermentation du glucose sans production de gaz	+	+	+
Dégradation du mannitol	+	-	-
Production d'indole	+	-	+
Présence de nitrate réductase	+	+	-
Fermentation du glucose sans production de gaz	+	+	+
Dégradation du mannitol	+	-	-

5. Facteurs de virulence et physiopathologie

La virulence a été décrite comme : « la Capacité d'un agent pathogène à réduire l'aptitude de l'hôte » (Massey et al., 2006), autrement « La capacité d'un micro-organisme à établir Une infection et causer une maladie chez un hôte » (Lee et al., 2003 ; Salyers et al., 1994). Facteurs importants pour les agents pathogènes La virulence contribue généralement soit, à l'évasion immunitaire, à la stimulation immunitaire, La colonisation, les facteurs qui causent des dommages à l'hôte (Lee et al., 2003 ; Salyers et al., 1994).

5.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*, étant impliqué à la fois dans les infections nosocomiales. En raison de l'importance des infections à *Staphylococcus aureus* et de la prévalence croissante des souches résistantes aux antibiotiques, cette bactérie est devenue l'espèce Staphylococcus la plus étudiée (Costa et al., 2013 ; Liu et al., 2005).

5.1.1. Expression des déterminants de la virulence chez *S. aureus*

Staphylococcus aureus est connu pour sa capacité à provoquer un large éventail d'infections importantes chez l'homme. Cette capacité est liée à l'expression d'un éventail de facteurs qui participent à la pathogenèse de l'infection, permettant à cette bactérie d'adhérer à surfaces/tissus, évitent ou envahissent le système immunitaire et provoquent des effets toxiques nocifs pour l'hôte . Ces facteurs sont connus sous le nom de déterminants de la virulence et peuvent être divisés en associés à la surface cellulaire (adhérence) et sécrétés (exotoxines)(Lowy, 1998 ; Dinges et al., 2000).

5.1.2. Facteurs de surface cellulaire

Staphylococcus aureus exprime plusieurs facteurs de surface cellulaire qui jouent un rôle dans sa virulence. Ceux-ci incluent la surface microbienne composés reconnaissant les molécules de la matrice adhésive (MSCRAMM), les polysaccharides capsulaires et la staphyloxanthine (pigment caroténoïde)(Lin et Peterson, 2010).

5.1.3. Facteurs sécrétés (exotoxines)

Une caractéristique importante de *Staphylococcus aureus* est sa capacité à sécréter des toxines qui contrairement au rôle protecteur et passif des facteurs de virulence associés à la paroi cellulaire mentionnés ci-dessus jouent un rôle actif dans le désarmement de l'immunité de l'hôte. En effet, ils perturbent les cellules et les tissus hôtes et interfèrent avec le système immunitaire de l'hôte pour libérer les nutriments et faciliter la dissémination des bactéries (Lin et Peterson, 2010 ; Foster, 2005). Ces facteurs sécrétés peuvent être divisés en quatre catégories : superantigènes, cytolytiques (pore-Formant) des toxines, diverses exoenzymes et diverses protéines (Lin et Peterson, 2010).

5.1.4. Superantigènes

Les superantigènes sont un groupe de puissantes protéines immunostimulatrices sécrétées capables d'induire une variété de maladies, y compris le syndrome de choc toxique (TSS) (Le Loir, 20210)

5.1.5. Toxines cytolytiques (formant des pores)

Staphylococcus aureus sécrète un grand nombre de toxines cytolytiques qui, bien que structurellement diverses et avec des cibles différentes spécifiques, partagent une fonction similaire sur les cellules hôtes. Ces toxines forment des pores en tonne au β dans les membranes cytoplasmiques de ciblent les cellules et provoquent une fuite du contenu cellulaire (à faible dose) et une lyse cellulaire (à forte dose) (Lin et Peterson, 2010 ; Foster, 2005).

5.1.6. Diverses exoenzymes

Presque toutes les souches de *Staphylococcus aureus* sécrètent plusieurs enzymes extracellulaires dont la fonction est considérée comme la perturbation de tissus de l'hôte et/ou inactivation des mécanismes antimicrobiens de l'hôte (par exemple, lipides, défensines, anticorps et complément médiateurs) pour acquérir des nutriments pour la croissance bactérienne et faciliter la dissémination bactérienne (Dinges et al., 2000 ; Lin et Peterson, 2010). Ces exoenzymes comprennent les lipases, les nucléases, les protéases (sérine, cystéine (par exemple staphopaine), auréolysine), hyaluronidase et staphylokinase (SAK) (Dinges et al., 2000; Bokarewa et al., 2006; Lin et Peterson, 2010).

5.1.7. Protéines diverses

Staphylococcus aureus possède également d'autres protéines spécifiques qui peuvent avoir un impact profond sur le système immunitaire inné et adaptatif. Ces protéines

comprennent l'inhibiteur du complément staphylococcique (SCIN) (Rooijackers et al., 2005), la protéine de liaison au fibrinogène extracellulaire (Efb) (Lee et al., 2004 ; Lee et al., 2004), protéine inhibitrice de la chimiotaxie de *Staphylococcus aureus* (CHIPS) (Foster, 2005), protéine inhibitrice du récepteur de peptide formyl-like-1 (FLIPr) (de Haas et al., 2004 ; Prat et al., 2006) et la protéine d'adhérence extracellulaire (Eap) (Harraghy et al., 2003).

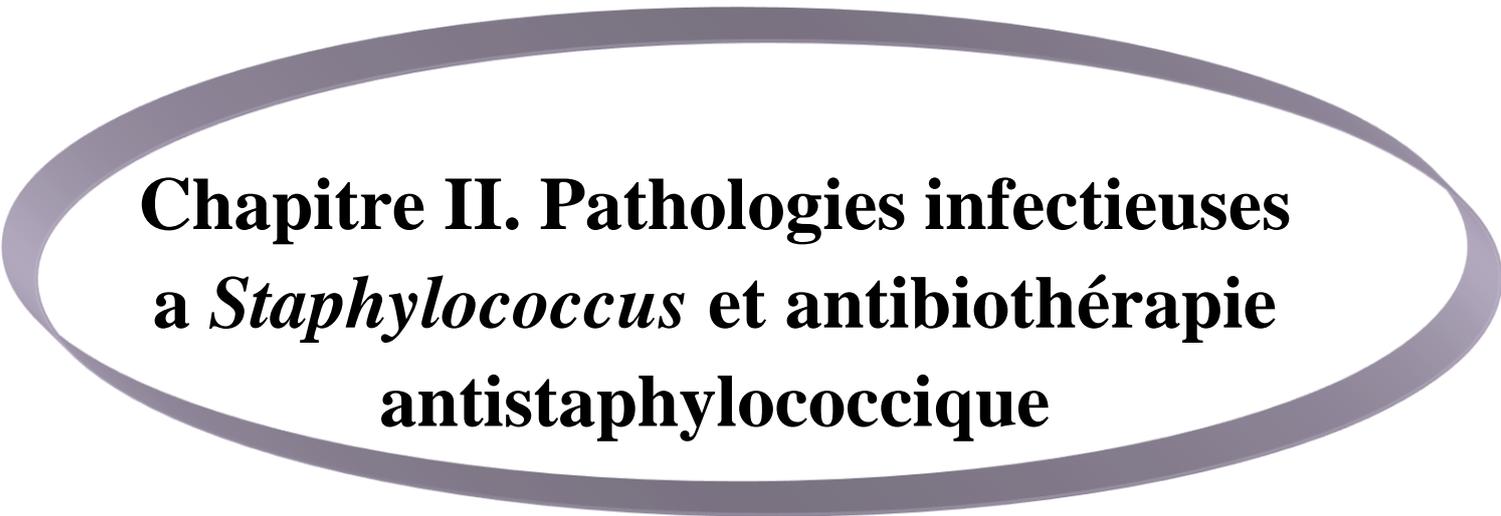
5.2. *Staphylococcus epidermidis*

La colonisation omniprésente de *Staphylococcus epidermidis* sur la peau et les muqueuses humaines leur donne la possibilité de provoquer des infections dans des circonstances particulières. Cependant, *S. epidermidis* généralement sont des bactéries peu virulentes avec peu de facteurs de virulence (Otto, 2004 ; Otto, 2009). *Staphylococcus epidermidis* est apparu comme un pathogène humain opportuniste important, reflétant l'utilisation accrue de dispositifs médicaux à demeure et un nombre croissant de patients dont le système immunitaire est affaibli, on prend comme exemples : les patients recevant un traitement immunosuppresseur, les nourrissons prématurés, les patients atteints du SIDA et les médicaments agresseurs (Otto, 2004 ; Vadyvaloo et Otto, 2005 ; Sarkar et al., 2019). Aujourd'hui *Staphylococcus epidermidis* est considéré comme l'une des causes les plus fréquentes des infections nosocomiales (Sarkar et al., 2019) (Système de surveillance des infections nosocomiales (NNIS) ; Chez l'homme immunocompétent, *S. epidermidis* devient principalement pathogène) lorsqu'il est associé à dispositifs médicaux à demeure (biofilm), tels que shunts artério-veineux, lentilles de contact, sondes urinaires et cathéters veineux centraux, appareils orthopédiques et cathéters de dialyse péritonéale (Otto, 2004 ; Arciola et al., 2005 ; Stoll et al., 2002) et dans de rares cas, lorsqu'il est associé à une endocardite valvulaire native (Caputo et al., 1987 ; Mylonakis et Calderwood, 2001). Les infections à *S. epidermidis* sont rarement mortelles, mais elles contribuent de manière significative à la morbidité et coûts des soins de santé (Sarkar et al., 2019 ; vonEiff et al., 2002). Il existe également des risques de sous-déclaration et de sur déclaration des infections à *S. epidermidis*, en raison de difficultés à trouver une norme commune pour déterminer la pertinence clinique d'une souche, car les *S. epidermidis* cliniquement pertinents sont également des contaminants courants des échantillons cliniques. En général, *S. epidermidis* a peu de facteurs de virulence qui causent directement des dommages à l'hôte, par rapport à son parent plus virulent, *S. aureus*. *S. epidermidis* doit donc s'appuyer sur des facteurs modulant le système immunitaire de l'hôte afin de maintenir une infection persistante. Il a

été suggéré que *S. epidermidis* pourrait en effet avoir un avantage évolutif de cette faible agressivité (Massey et al., 2006). En fait, bon nombre des facteurs importants pour le maintien de la vie commensale de *S. epidermidis* sont bénéfiques en tant que facteurs de virulence lors d'une infection.

5.3. *Staphylococcus saprophyticus*

Les facteurs de virulence de *S. saprophyticus* comprennent l'adhérence aux cellules urothéliales au moyen d'une protéine associée à la surface, l'acide lipotéichoïque; une hémagglutinine qui se lie à la fibronectine, une hémolysine; et la production de boue extracellulaire (Gatermann, 1996).



**Chapitre II. Pathologies infectieuses
à *Staphylococcus* et antibiothérapie
antistaphylococcique**

1. Pathogénicité et pouvoir pathogène des Staphylocoques

Staphylococcus est l'une des bactéries les plus courantes produisant des infections cutanées dans le monde. Ces infections cutanées vont des infections mineures, telles que les furoncles ou d'autres infections cutanées, aux cas graves la pneumonie, bactériémie, syndrome de choc toxique.

1.1 Les infections reliées à *Staphylococcus aureus*

1.1.1. Les infections suppuratives à *staphylocoques*

Ces infections sont causées par la bactérie *Staphylococcus aureus*, qui est un pathogène opportuniste fréquent chez l'homme, (Lowy 1998 ; Tong et al., 2015). La bactérie peut se trouver dans les voies respiratoires, sur la peau, dans les muqueuses nasales, dans la gorge, dans les intestins et dans le vagin de certains individus. Bien que la plupart des porteurs de *S. aureus* restent asymptomatiques, certains peuvent développer des infections suppuratives, qui sont souvent douloureuses et peuvent entraîner des complications graves (Revest et al., 2014).

1.1.1.1. Infections superficielles cutanéomuqueuses

Les infections cutanées et muqueuses superficielles à *staphylocoques* sont un type d'infection bactérienne de la peau causée par *Staphylococcus aureus*. Ces infections peuvent aller des infections mineures comme l'impétigo aux infections plus graves comme la cellulite (Hatkar et al., 2018). L'association des infections à *Staphylocoques* avec la thrombose veineuse profonde, et le répertoire d'anticorps contre les antigènes de *S. aureus* chez les patients atteints d'infections à *staphylocoques* profondes ou superficielles (Maher et Rodriguez, 2018).



Figure 3. Sycosis (Pascal Del Giudice, 2020)



Figure 4. Furoncle (Pascal Del Giudice, 2020)

1.1.1.2. Infections profondes

Les infections Staphylococciques profondes sont un type d'infection causée par les bactéries *Staphylococcus* qui affectent les tissus ou les organes profonds à l'intérieur du corps . Ces infections peuvent affecter divers organes, tels que le cœur, les poumons, les os ou les articulations, et leur gravité peut varier selon leur localisation(**Ameen, 2014 ; Maher et Rodriguez, 2018**).

1.1.2 Les infections du tractus respiratoire

Staphylococcus aureus est un pathogène qui peut causer des infections des voies respiratoires inférieures (IVRI) (**Li et al., 2011 ; Vn, 2022**). Il existe trois formes cliniques de la pneumopathie :

- *Staphylococcie* pleuropulmonaire (nourrisson-enfant) (**Dicko, 2013**).
- la pneumonie nécrosante (infection communautaire, enfant et adulte jeune immunocompétents) due à des souches productrices de LPV, exceptionnellement résistantes L'oxacilline (**Dicko, 2013**).
- la pneumopathie nosocomiale (souvent de réanimation, sujet âgé, souche non productrice de LPV, souvent résistante à l'oxacilline) (**Dicko, 2013**).

1.1.3. Les infections urinaires

1.1.3.1. Infection urinaire chez *Staphylococcus aureus*

Les infections urinaires à Staphylocoques sont causées par des bactéries *Staphylococcus* et peuvent être identifiées grâce à des échantillons d'urine selon (**Shahabi et al., 2018 ; Mahood et al., 2020 ; Al-Ethari et al., 2022**). *Staphylococcus aureus* est une espèce de staphylocoques qui peut causer des infections des voies urinaires (**Balamurugan et al.,**

2015 ; Mahood et al., 2020). Les infections urinaires à Staphylocoques sont courantes, en particulier chez les personnes ayant des antécédents de cathétérisme urinaire ou chez les patients ayant une altération de l'immunité (Mahood et al., 2020).

1.1.3.2. Infection urinaire chez *Staphylococcus saprophyticus*

S. saprophyticus est essentiellement retrouvé chez la femme jeune en période d'activité sexuelle. Et l'âge moyen des patients est de 22-23 ans (Latham et al, 1983, Leightone et Little, 1986). Il est rarement retrouvé chez les patients hospitalisés. *S. saprophyticus* est responsable d'une pyurie; certaines études suggèrent que les reins sont atteints dans la moitié des cas (Hovrlius et Mardh, 1984).

1.1.4. Infections du système nerveux central à Staphylocoques

Les infections Staphylococciques du système nerveux central sont des infections graves qui nécessitent une attention médicale urgente (Antosz et al., 2023). Il est important de noter que les patients atteints de maladies sous-jacentes telles que la sclérose en plaques peuvent être plus vulnérables aux infections opportunistes telles que la méningite Staphylococcique. Dans ces cas, une approche interdisciplinaire impliquant des neurologues et des infectiologues peut être nécessaire pour assurer un traitement efficace (Frenkel et al., 1981).

1.1.5. Infections endovasculaires et valvulaires cardiaques à Staphylocoques

Les infections endovasculaires et des valves cardiaques causées par *Staphylococcus*, il est important de noter que le diabète est un facteur de risque majeur pour les infections cutanées et des tissus mous causées par *Staphylococcus aureus*, qui peuvent évoluer vers des infections plus graves impliquant des muscles, des os et des valves cardiaques (Hatkar et al., 2018).



Figure 5. Purpura pendant l'endocardite (Pascal Del Giudice, 2020)

1.1.6. Infections digestives à Staphylocoques

Les Staphylocoques sont des bactéries qui peuvent causer des infections digestives dans différentes parties de l'appareil gastro-intestinal, allant de l'estomac à l'intestin grêle et au côlon. Les symptômes des infections digestives à Staphylocoques peuvent varier, mais ils incluent généralement des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales, de la diarrhée, de la fièvre et de la déshydratation (Swolana et al., 2021).

Les infections à Staphylocoques peuvent entraîner une augmentation des taux de morbidité et de mortalité chez les patients (Crisan et al., 2022). Ils peuvent affecter les personnes immunodéprimées celles qui ont reçu un traitement antibiotique prolongé et qui ont été hospitalisées à plusieurs reprises.

1.1.6.1. Infection digestive à *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis est une bactérie qui appartient à la flore microbienne humaine et qui est présente en grande quantité sur la peau, dans le système respiratoire et dans le tractus digestif humain (Swolana et al., 2021).

1.1.7. Infections toxiques à Staphylocoques

Les infections Staphylococciques sont causées par la bactérie *Staphylococcus aureus* et peuvent entraîner différentes maladies, telles que le syndrome de choc toxique, la pneumonie nécrosante et la fasciite nécrosante (Gillet et al., 2018). *S. aureus* sécrète des facteurs de virulence, notamment des superantigènes tels que les entérotoxines Staphylococciques (SE), qui contribuent de manière significative à la pathogénèse de l'organisme selon (Lin et Peterson, 2010). Différents sous-types de SE ont été associés à différentes infections, SEC-2 et SEC-3 étant les sous-types les plus toxiques dans un modèle de lapin et associés au syndrome de choc toxique menstruel et aux isolats vaginaux de femmes en bonne santé (Chuang-Smith et Schlievert, 2021).



Figure 6. Desquamation distale après syndrome de choc toxique (Pascal Del Giudice, 2020)

2. Antibiothérapie antistaphylococcique

Les infections à Staphylocoques sont un problème de santé publique majeur dans le monde entier, ces infections sont causées par la bactérie *Staphylococcus* (Lowy, 1998; Tong et al., 2015). Le traitement des infections à Staphylocoques peut inclure

l'utilisation d'antibiotiques topiques ou oraux (**Hatkar et al., 2018 ; Maher et Rodriguez, 2018**).

Tableau 3. Antibiothérapie antistaphylococcique

Bactérie	Type d'infection	Antibiothérapie	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	superficielle scutanéo-muqueuses	traité par des macrolides ou apparentés	(Shahabi et al., 2018)
	Profondes	-difficiles à traiter -nécessite des traitements prolongés d'antibiotiques intraveineux. Certaines études ont exploré l'utilisation de traitements alternatifs, tels que; le triméthoprim-sulfaméthoxazole ou la linézolide. -D'autres études ont examiné l'utilisation de la rifampicine adjointe pour améliorer l'efficacité du traitement antibiotique	(Ameen, 2014 ; Ma et al., 2020)
	Urinaires	Les antibiotiques, tels que la vancomycine, la linezolid et la daptomycine	(Shahabi et al., 2018)
	Système nerveux central	-Antibiotiques tels que la oxacilline ou le céfazoline, si l'infection est causée par une souche de <i>Staphylococcus aureus</i> résistante à la méthicilline, une combinaison	(Brackbill et Brophy, 2001)

		de plusieurs antibiotiques, y compris la rifampicine, peut être nécessaire. Et La gentamicine intraventriculaire	
	endovasculaires et valvulaires cardiaques	Antibiotiques adjoints tels que la gentamicine et le rifampicine a été recommandée dans certains cas	(Ryder et al., 2022)
	Toxiniques	-Les antibiotiques inhibent la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> , mais ne fournissent souvent aucune protection contre les exo protéines de <i>S. aureus</i> . -Des recherches sont en cours sur les thérapies antitoxines qui empêchent la production de toxines et préviennent leurs effets sur les cellules hôtes	(Lin et Peterson, 2010)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Digestives	-Antibiotiques tels que : la vancomycine, la daptomycine, la rifampycine	(Swolana et al., 2021)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Urinaire	<i>Stphylococcus saprophyticus</i> est sensible à la plupart des antibiotiques tels que : fluoroquinolone	(Shrestha et Darrell 1979)

2.1. Résistance aux antibiotiques

2.1.1. Mécanismes de résistance aux Beta lactamine

2.1.1.1. Résistance à la pénicilline

Résistance staphylococcique à la pénicilline est médiée par blaZ, le gène qui code B-lactamase, Ce extracellulaire enzyme synthétisée dans le cas où les staphylocoques sont Exposés aux antibiotiques β -lactamines, (hydrolyse les β -lactamines Anneau, rendant le β -lactame inactif). blaZ est sous la Contrôle de deux gènes régulateurs adjacents, le Presseur blaR1 et le répresseur blaI (**Kernodle, 2000**). Des études récentes Ont démontré que la voie de signalisation répond Possible pour la synthèse de la β -lactamase nécessite un clivage séquentiel Des protéines régulatrices BlaR1 et BlaI. Suivre- Exposition aux β -lactamines, BlaR1, un transmembranaire Capteur-transducteur, se clive émettent l'hypothèse que la

protéine clivée fonctionne comme un protéase qui clive le répresseur BlaI, directement ou indirectement (une protéine supplémentaire, BlaR2, peut être impliquée dans cette voie et permet à blaZ de synthétiser l'enzyme (B-lactamase) (Gregory et al., 1997 ; Zhang et al., 2001 ; Zhang et al., (2001) .

2.1.1.2. Résistance à la méthicilline

La méthicilline, la première des pénicillines semi-synthétiques résistantes à la pénicillinase. La résistance à la méthicilline a été signalée très rapidement après son introduction (Jevons, 1961). La résistance survient après le changement chromosomique l'acquisition d'un nouvel ADN, aboutissant à la production d'une nouvelle protéine de liaison à la pénicilline, appelée PBP2a, avec une faible affinité de liaison pour méthicilline (Woodford, 2005). PBP2a remplace toutes les autres protéines de liaison à la pénicilline, et en raison de sa faible affinité pour tous les antibiotiques b-lactamines qu'il confère résistance à tous les agents b-lactamines, y compris céphalosporines (Lowy, 2003). PBP2a est codé par mecA, partie de l'élément génétique mobile, la cassette chromosomique staphylococcique mec (SCCmec) (Wood, 2005).

2.1.2. Résistance à vancomycine

Jusqu'à maintenant, la résistance à la vancomycine n'a pas été rapportée chez les souches cliniques de *S. aureus*. Seules de rares souches intermédiaires à la teicoplanine ont été décrites (Kaatz et al., 1990 ; Vedel et al., 1990) sans que l'activité de la vancomycine apparaisse anormale. Des mutants de *S. aureus* résistants à la Vancomycine ont pu être obtenus par sélection in Vitro a basse fréquence ou après transfert conjugatif de l'opéron de gènes vanA qui code pour la Résistance à la vancomycine chez les entérocoques (Daum et al., 1992 ; Noble et al., 1992). Des mutants résistants à la teicoplanine sélectionnés in vitro ont été aussi obtenus (Daum et al., 1992).

2.1.3. Résistance à aminoside

Les résistances aux aminosides sont dues la production par les Staphylocoques d'enzymes modificatrices des aminosides appartenant à trois classes, acétyltransférases (AAC), nucleotidyltransférases (ANT) et phosphotransférases (APH) codées par des gènes acquis (plasmidiques ou transposables). Chacun de ces enzymes est dénommée en fonction de la molécule qu'elle modifie et reconnaît un certain nombre d'aminosides qu'elle modifie, ce qui se traduit par un phénotype de résistance. Quand l'aminoside modifié est bon substrat pour l'enzyme, le niveau de résistance conféré est élevé ; quand l'aminoside est mauvais substrat, l'altération de son activité peut ne pas se traduire par une résistance mais par une

perte de son activité bactéricide et de la synergie avec les bêta-lactamines (**Tankovic et al., 1997**). Si l'on omet celles inactivant la streptomycine, trois enzymes sont décrites, qui sont identiques à celles détectées chez de nombreuses espèces de bactéries à Gram positif (*staphylocoques, streptocoques, entérocoques*) et sont différentes de celles des bactéries à Gram négatif (**Tankovic et al., 1997**).

- Aminoglycosidephosphotransférase (APH)
- Aminoglycosidenucleotidyltransférase (ANT)
- Une enzyme bifonctionnelle (une seule protéine avec deux fonctions enzymatiques), aminoglycosideacétyltransférase) (Aac-APH)

2.1.4. Résistance à la streptogramine

Il n'y a pas d'informations spécifiques sur la résistance des staphylocoques à la streptogramine seule. Les résultats de la recherche suggèrent que les antibiotiques macrolides, lincosamides et streptogramine B (MLSB) sont couramment utilisés pour traiter les infections staphylococciques, et l'utilisation abusive d'antibiotiques a augmenté la résistance croisée aux antibiotiques MLSB parmi les staphylocoques (**Vallianou et al., 2015 ; El-Badawy et al., 2019; Nagarkoti et al., 2019; Ve Genotipik, 2020**). Le phénotype de résistance peut être l'un des phénotypes constitutif, inductible ou d'efflux selon (Ve Genotipik, 2020). Les gènes de résistance MLSB les plus courants étaient *ermC* dans le phénotype constitutif, *mcrA* dans le phénotype de résistance aux macrolides/macrolides-streptogramine B, et *ermC* et *mcrA* dans les isolats de phénotype de résistance inductible (**Vallianou et al., 2015 ; El-Badawy et al., 2019 ; Nagarkoti et al., 2019 ; Ve Genotipik, 2020**).

2.1.5. Résistance à la quinolone

Les quinolones agissent en inhibant spécifiquement la synthèse de l'ADN, ceci étant rapidement suivi par la mort de la bactérie. Cette action sur l'ADN est secondaire à l'inhibition de deux topo isomérases bactériennes : l'ADN gyrase, qui catalyse le surenroulement négatif de l'ADN, et l'ADNtopo-isomérase IV qui est responsable de la décaténation des chromosomes au cours de la réplication (**Luttinger, 1995**). Les quinolones sont capables de stabiliser un complexe de clivage ADN-enzyme normalement transitoire, ceci déclenchant l'activation de certains systèmes de réparation de l'ADN, phénomènes encore très mal connus mais qui sont responsables de l'effet bactéricide des quinolones (**Chen et al., 1996**).

Les staphylocoques sont naturellement résistants aux quinolones de première génération comme l'acide nalidixique mais sont en revanche sensibles aux fluoroquinolones.

2.1.6. Résistance au macrolide

Les macrolides inhibe la synthèse protéique qui agisse lors de l'élongation des chaînes peptidiques. Les macrolides exercent une activité bactériostatique vis-à-vis des *staphylocoque* (Tankovic et al., 1997).

L'érythromycine est un macrolide qui bloque la sortie du polypeptide tunnel adjacent au PTC (Wilson, 2014). Aujourd'hui, les macrolides ne sont pas largement utilisés pour combattre les infections *staphylococciques* dans les pays développés monde, mais ont un rôle dans les infections à SASM. Les macrolides semi-synthétiques clarithromycine, l'azithromycine et la télithromycine sont utilisées en clinique pour traiter les infections causées par des bactéries autres que *S. aureus* (Rayner et Munckhof., 2005).

2.1.7. Résistance à la fusidine

Cet inhibiteur des synthèses protéiques apparait capable de bloquer l'étape de translocation car il stabilise le complexe ribosome-facteur d'élongationG-GDP qui normalement se dissocie après la translocation du peptide. La résistance à l'acide fusidique est surtout due des mutations survenant à haute fréquence, ce qui justifie l'emploi de cet antibiotique en association.

Tableau 4. Antibiotiques antistaphylococcique et leurs modes d'action (Dembele, 2020 ; Dombia, 2020)

Famille	Sous famille	Origine	Mode d'action
Bêtalactamine	Pénicilline	Naturelle	Agissent sur la paroi des bactéries en phase de croissance par inhibition des transpeptidases, en empêchant les liaisons inter peptidiques Cible : protéines liant les pénicillines (PLP) -Effet bactéricides
		Semi – synthétique	
	Céphalosporines	Naturel ou semi synthétique	
Polypeptides		Naturelle	

Aminoside		Naturel ou semi synthétique	Altération de synthèse protéique par introduction des erreurs de lecture et d'inhibition de la traduction -Effet bactéricides
Macrolide		Naturel ou semi synthétique	Inhibition des synthèses protéiques au niveau des ribosomes en se liant à la sous unité 50s
Apparentés Auxmacrolides	Lincosamides	Naturelle ou semi-synthétique	Inhibition des synthèses protéiques au niveau des ribosomes en se liant à la sous unité 50s
Tétracycline		Naturelle ou semi-synthétique	Inhibition des synthèses protéiques au niveau des ribosomes en se liant à la sous unité 30s -Effet bactéricides
Phénicols		Naturelle ou semi-synthétique	Synthèses protéiques en se liant à la sous unité 50s des ribosomes (réversible)
Sulfamides		Synthétique	Inhibition compétitive de la dihydropteroate Synthèse, bloquant ainsi la synthèse de l'acide dehydrolyque -Effet bactériostatique (sulfamide) -inhibition des dihydrofolates réductases bactériennes -Effet bactéricides
Quinolones		Synthétique	Inhibant spécifiquement la synthèse de l'ADN

			-Effet bactéricides
--	--	--	---------------------

3. Développement de la résistance des *Staphylococcus* aux antibiotiques

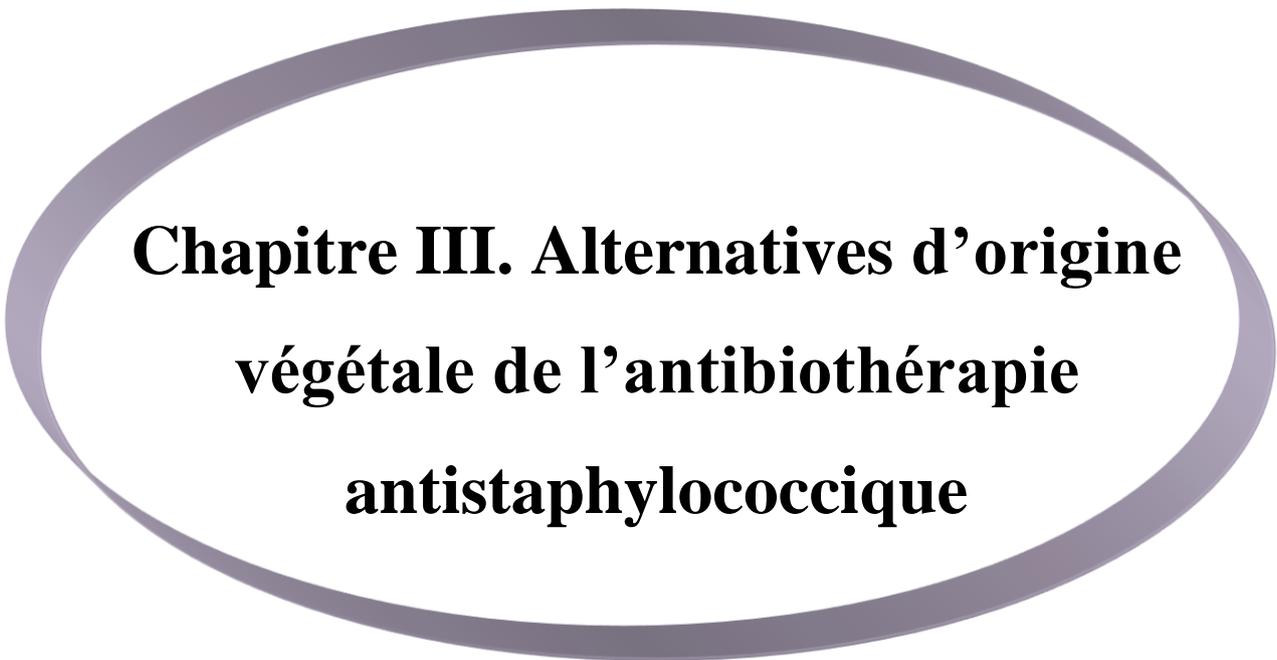
Chronologie du développement des antibiotiques et l'évolution de la résistance aux antibiotiques (**Dahal et al., 2018**). La résistance aux antibiotiques est un gros problème pour les organismes de santé. Même, le thème de la Journée mondiale de la santé 2011 était « Résistance aux antimicrobiens : pas d'action aujourd'hui, pas de remède demain ». La résistance aux antibiotiques est la capacité des bactéries à résister aux effets d'un antibiotique auquel ils étaient autrefois sensibles. Les bactéries deviennent résistantes aux antibiotiques en adaptant leurs structures et Fonctionne en quelque sorte comme un mécanisme de défense, (**Morar et al., 2010, Dever et al., 1991 ; Levy, 1998**).

4. Conséquences de résistances des *Staphylococcus* aux antibiotiques

Les résistances des Staphylocoques aux antibiotiques peuvent avoir de graves conséquences, notamment une augmentation des taux de mortalité et des difficultés de traitement des infections. Par exemple, des études cliniques récentes ont montré de faibles taux d'éradication de staphylocoques dans les pneumonies nosocomiales (**Lode et al., 1995**). Dans une étude sur les infections associées aux soins de santé dans une unité de soins intensifs pédiatriques, les staphylocoques à coagulase négative avaient un taux de résistance de 100 % à la méthicilline, et le taux de mortalité d'une infection bactérienne était de 40,4 % (**Cetin et al., 2022**). L'augmentation de la résistance aux antimicrobiens est un problème mondial, et doit être combattue par des mesures robustes de lutte contre les infections et la mise en place de programmes de gestion des antibiotiques, notamment la surveillance des épisodes d'infection selon (**Shane et al., 2017**).

Les Staphylocoques sont des bactéries pathogènes communes qui peuvent causer diverses infections chez les humains, allant de l'infection cutanée légère à la pneumonie et à la septicémie. Les staphylocoques résistants aux antibiotiques, tels que le SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline), sont de plus en plus fréquents et posent un grave problème de santé publique. Les staphylocoques peuvent développer différentes formes de résistance aux antibiotiques, ce qui complique leur traitement. Il est donc essentiel d'identifier les mécanismes de résistance des staphylocoques aux antibiotiques, afin de pouvoir choisir les traitements les plus appropriés . Les études cliniques ont montré que la

résistance des Staphylocoques aux antibiotiques peut entraîner des taux d'éradication plus faibles et des taux de mortalité plus élevés(Cetin et al., 2022).



**Chapitre III. Alternatives d'origine
végétale de l'antibiothérapie
antistaphylococcique**

1. Plante médicinale

1.1. Historique

Depuis les temps anciens, à la recherche de secours pour leur maladie, les gens cherchaient des drogues dans la nature. Les débuts de L'utilisation des plantes médicinales était instinctive, comme c'est le cas chez les animaux, compte tenu du fait qu'à l'époque il n'y avait pas suffisamment des informations concernant soit les causes des maladies, soit Concernant quelle plante et comment elle pourrait être utilisée comme remède, Tout était basé sur l'expérience (**Stojanoski, 1999**).

Avec le temps, les raisons de L'utilisation de plantes médicinales spécifiques pour le traitement de certains Des maladies étaient découvertes ; ainsi, les plantes médicinales L'usage abandonne peu à peu le cadre empirique et devient Fondée sur des faits explicatifs. Jusqu'à l'avènement de l'iatrochimie Au 16^{ème} siècle, les plantes avaient été la source de traitement et Prophylaxie . Néanmoins, l'efficacité décroissante des produits synthétiques Médicaments et les contre-indications croissantes de leur utilisation, L'utilisation de médicaments naturels topiques à nouveau(**Kelly, 2009**).

1.2. Définition des plantes médicinales

Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Les médicaments à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes (**Jiofack et al., 2009**).

Tableau 5. Activité antimicrobienne et mécanismes d'action de différentes parties des plantes (Nagaraj et kawang, 2022)

Plante	Partie	Pathogène	Mécanisme
<i>Curcuma longa</i>	Rhizome	<i>S. aureus</i> , <i>B. Subtilis</i>	Perte d'intégrité membranaire
<i>Thymus vulgaris</i>	Feuilles	<i>E. Coli</i> , <i>S. aureus</i>	Affinité chimique pour lipides membranaire
<i>Panax ginsemg</i>	Racines	<i>B. cereus</i> , <i>S. aureus</i>	Change dans le potentiel membranaires
<i>Zingiber officinale</i>	Rhizome	<i>E. Coli</i> , <i>S. aureus</i>	Dommmages à la membrane cellulaire

1.3. Usages traditionnels

Depuis des temps immémoriaux, les gens ont essayé de trouver des médicaments pour soulager la douleur et guérir différentes maladies. A Chaque siècle de succès depuis le développement de l'humanité et civilisations avancées, les propriétés curatives de certaines plantes médicinales ont été identifiées, notées et transmises aux générations successives (Petrovska, 2012). Les peuples anciens utilisaient les plantes médicinales principalement comme simple forme pharmaceutique : infusions, décoctions et macérations. Au Moyen Âge, et en particulier entre le XVIe et les XVIIIe siècles, la demande de médicaments composés augmentait. Les médicaments composés comprennent des plantes médicinales ainsi que des médicaments d'origine animale et végétale. Si le médicament la thériaque a été produit d'un certain nombre de plantes médicinales, d'animaux rares et de minéraux, il était très apprécié et vendu cher (Bojadziewski, 1992).

2. Substances bioactives

Les composés bioactifs sont des substances dérivées d'une source naturelle biologique (animale ou végétale) et qui est biologiquement active ou ayant une activité pharmacologique ou toxicologique à des effets sur l'homme et l'animale (Bernhoft, 2010)

2.1.Sources des substances bioactives

Les substances bioactives sont de source naturelle biologique végétale (végétaux terrestres et marins) ou animale (animaux et microorganismes terrestres, animaux et microorganismes marins).

2.1.1. Source animale de substances bioactives

On a plusieurs sources animales de molécules bioactives (les insectes, les amphibiens, les reptiles) 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'autre organismes (**Zhang W X A et al., 2015**). Aussi des composés biologiquement actifs avec différents modes d'action, tels qu'antiprolifératif, 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 structurelles de ces peptides comprennent divers résidus d'acides aminés qui peuvent être responsable de leur bioactivité (**Suarez et al., 2012**). Les sous -produits naturels, notamment les composés phénoliques, sont très demandés par les industries nutra-pharmaceutiques et biomédicales. Une étude analytique a été réaliser sur l'extrait de cladodes de ficodindia di sancono (*opuntia ficus-indica*), par des méthodes clairement appliquée l'analyse démontré la présence de polyphénols (2g/kg) et ces composés étaient principalement responsable des propriétés antioxydants (**Rocchetti et al., 2018**)

2.1.2. Source végétale de substances bioactives

Les plantes ont aussi était largement utilisé pour leurs propriétés biologiques (**Curare, 2020**). Ils sont capables de produire un grand nombre de substances bioactives diverses Parmi les plantes intéressantes on 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**).

A. Composition chimiques des substances bioactives

- **Les métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques, non participent à la croissance et Au développement normaux de un organisme dont les fonctions sont en grande partie inconnues, bien qu'ils semblent impliqués dans la défense de l'organisme (**Lelario et Al.,2018**).

a.1.Les composés bioactifs

Les composés bioactifs sont des substances qui sont présentes dans les aliments en petites

quantités et qui ont la capacité d'avoir des effets bénéfiques sur la santé. Les composés bioactifs comprennent, mais sans s'y limiter, les acides gras polyinsaturés à longue chaîne, les vitamines, les caroténoïdes, les peptides et les polyphénols (**Georganas et al., 2020**).

a.1.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques végétaux sont similaires à bien des égards aux alcools à structure aliphatique, mais la présence d'un cycle aromatique, d'un atome d'hydrogène du groupe hydroxyle phénolique en fait des acides faibles (**Kumara et Goelb .,2019**) Ils assurent de nombreuses fonctions physiologiques aux plantes survie et ont une importance fondamentale dans l'adaptation des plantes aux altérations environnementales imposées (**Borge et al., 2017**).

a.1.1.1. Les non flavonoïdes

a) Les acides phénoliques

Le terme <>comprend les dérivés hydroxy et autres fonctionnels de l'acide benzoïque (C6-c1) et de l'acide cinnamique (c6-c3) (**kaurinovic et vastag ., 2019**).

b) Les coumarines

Les coumarines sont des métabolites secondaires aromatiques, à noyau benzo- α pyrone, appartenant à la famille des composés phénoliques. Plus de 1300 coumarines ont été identifiées dans les plantes, les bactéries et les champignons. Les coumarines sont connues pour leurs nombreuses utilisations en industries cosmétique, pharmaceutique et agrochimique. Elles possèdent diverses propriétés biologiques notamment antimicrobienne, antivirale, antiinflammatoire, antidiabétique et antioxydant (**Adou et al ., 2019**).

c) Les lignines

La lignine est l'un des métabolites secondaires les plus importants produits par la voie phénylalanine/tyrosine dans les cellules végétales. C'est le deuxième biopolymère le plus abondant qui représente 30% de la teneur en carbone organique de la biosphère, il joue un rôle important dans la croissance et le développement des plantes (**Liu et al., 2018**).

a.1.1.2. Les flavonoïdes

Les groupes des Flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, possèdent un élément structural de base en C15 (C6-C3-C6) (**Michel et al .,2011**) D'un point de vue chimique, les flavonoïdes sont des molécules phénoliques hydroxylées synthétisées par la voie des phénylpropanoïdes et se distinguent par leur classe structurale, leur degré d'hydroxylation et leur polymérisation. Les groupes fonctionnels hydroxyle des flavonoïdes sont responsables

de leur activité antioxydant et sont formés par deux cycles benzéniques (cycles A et B), reliés par un cycle pyrène hétérocyclique (**Russo et al.,2020**).

a.1.1.3.Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de substances naturelles composants chimiques. Ils sont largement distribués et environ 5500 alcaloïdes sont connus, comprenant la plus grande classe d'usines secondaires métabolites. Ils sont connus pour avoir des effets pharmacologiques et sont utilisés dans les médicaments, comme drogues récréatives et dans les rituels enthéogènes (**Jain et al ., 2019**).

3. Présentation des huiles essentielles

3.1. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits volatils obtenus à partir de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau (**Kalemba et Kunięka, 2003 ; Burt, 2004**). Ce sont des composés liquides qui se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Au point de vue chimique, il s'agit de mélanges extrêmement complexes. Environ 1% des espèces élaborent des essences. Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles renferment et en particulier les Labiées (Thym, Menthe, Origan,

Sauge, etc...), les Ombellifères (Anis, Fenouil, Angélique, Persil, etc.), les Myrtacées (Myrthe, Eucalyptus), les Lauracées (Laurier-sauce, Cannelle) (Werker, 1993). Les huiles essentielles peuvent être localisées dans tous les organes végétaux: les feuilles (Saad et al., 1995), les racines (Mojab et Nickavar, 2003), le bois (Howes et al., 2004), les rhizomes (Geiger, 2005), les écorces (Jham et al., 2005), les fruits (Glisic et al., 2007), les graines (Özcan et Chalchat, 2007) ou les fleurs (Akhlaghi, 2008).

3.2. Compositions chimique des huiles essentielles

La composition chimique de nombreuses huiles essentielles a été décrite dans plusieurs études. Elle varie en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes. Les méthodes d'analyses des huiles essentielles ont beaucoup évolué et il est maintenant possible d'isoler et d'identifier des composés auparavant inconnus ; ceci permet le développement de nouveaux mélanges pouvant avoir un effet additif ou synergique (Marriott et al., 2000). Dans le domaine des huiles essentielles la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) est aujourd'hui, la technique de référence pour la séparation et la caractérisation des différents composés (Salzer, 1977 ; Longevialle, 1981 ; Constantin, 1996). Les huiles essentielles contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, appartiennent à deux groupes : terpènes et terpénoïdes (isopréniques, monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes et triterpènes) (Clarke, 2008 ; Baser et Buchbauer, 2010) d'une part, et le groupe de composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part. Elles peuvent également contenir des hydrocarbures (terpènes et sesquiterpènes) et des composés oxygénés (alcools, esters, éthers, aldéhydes, cétones, phénols et éthers de phénol) (Bruneton, 2009)

3.3. Activités biologiques des huiles essentielles

3.3.1. Activité antibactérienne

Les HEs exercent leur activité antibactérienne sont mal connus. Du fait de la complexité de leur composition chimique, il est difficile de donner une idée précise sur le mode d'action des HEs. Il est probable que leur activité antibactérienne ne pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Dorman et Deans, 2000**).

Les terpènes ainsi que les flavonoïdes agissaient sur les cellules bactériennes en induisant une rupture de la paroi et de la membrane microbienne et par conséquent la libération du contenu cellulaire à l'extérieur en provoquant la mort cellulaire (**Tsuchiya et al., 1996**). Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides (**Johansen et al., 1997**). Certains auteurs suggèrent que ces produits naturels pénètrent à l'intérieur de la cellule microbienne et sont susceptibles d'interférer avec son métabolisme cellulaire (**Marino et al., 2001**).

Plusieurs études ont expliqué que l'effet synergique entre deux ou plusieurs constituants chimiques pourraient avoir un rôle principal dans l'activité biologique des HEs (**Elshafie et Camele, 2016**), ce qui permet la réduction de développement de la résistance de tout microorganisme pathogène. Par conséquent, certains composants tels que le carvacrol, terpinène et p-cymène sont plus efficaces quand ils sont combinés (**Adebayo et al., 2012**). Cette action synergique est due au p-cymène qui joue le rôle de médiateur pour le transport du carvacrol, à travers les composants de la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique.

3.3.2. Activité anti-oxydante

Le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibre entre la production des radicaux libres et d'enzymes anti-oxydantes, est en relation avec l'apparition des maladies (**Butterfield et Lauderback, 2002**). Les HEs de cannelle, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants (**Edris, 2007**). Le thymol et le carvacrol sont encore une fois les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes (**Braga et al., 2006**). L'activité anti-oxydante des huiles essentielles est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones, aldéhydes.

4. Méthodes d'extraction

4.1. Extraction par L'hydrodistillation

Méthode standard pour l'extraction d'huile essentielle à partir du matériel végétal. Dans cette technique le matériel végétal est complètement immergé dans de l'eau qui est ensuite portée à ébullition (**Triaux., 2019**). La température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeurs de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation. Elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures (**Hernandes., 2005**) L'eau environnante agit comme barrière contre la surchauffe de l'échantillon permettant ainsi une certaine protection de l'huile essentielle extraite. de même que précédemment, les composé volatiles sont ensuite entraîné par la vapeur d'eau , puis le mélange est condensé et , deux couches (aqueuse et riche en huile) sont obtenues et l'huile peut être encore séparée via des entonnoirs de séparation.

Cette technique ne nécessite pas l'utilisation de solvants organiques, ce qui en fait une option souhaitable lorsque le coût d'extraction est important. L'hydrodistillation implique trois processus physicochimiques principaux : l'hydrodiffusion, l'hydrolyse et la décomposition thermique (**Fagbemi et al., 2021**)

4.2. Extraction par micro-onde

C'est une méthode utilise une source de rayonnement micro-onde. Dans laquelle Le matériel végétal est immergé dans un solvant perméable aux micro-ondes. Provoquent un réchauffement de l'eau contenue dans le matériel végétal et par distension fait éclater les poches à essences. Les produits libérés sont dissous dans le solvant. Ce procédé est plus rapide que les systèmes classiques d'extraction et les huiles obtenues sont qualité (**Bouguerra, 2019**).

4.4. Extraction l'expression à froid

C'est une méthode artisanale qui est totalement abandonnée. Les plantes sont pressées à froid (notamment les agrumes : citron orange etc.) de l'écorce ou des fruits, cette technique consiste à briser mécaniquement les poches oléifères de zeste frais d'agrumes pour libérer leur contenu aromatique (**Lakhder, 2015**).

4.5. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Est une des méthodes officielles pour l'obtention des HE. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis antées dans l'essencier, avant d'être séparées en deux phases aqueuse (HA) et organique (HE) (**Boukhatem et al., 2019**).

L'huile essentielle non miscible à l'eau doit ensuite être extraite de la solution aqueuse par simple antation ou par une extraction liquide-liquide avec un solvant hydrophobe. Le ballon contenant la matière végétale est chauffé pour que la vapeur d'eau ne se liquéfie pas (**Triaux, 2019**).

4.6. Extraction assistée par ultrasons

Implique l'utilisation d'ultrasons allant de 20 kHz à 2000 kHz (**Handa et al., 2008**) L'effet mécanique de la cavitation acoustique des ultrasons augmentent la surface de contact entre les solvants et les échantillons et la perméabilité des parois cellulaires. Propriétés physiques et chimiques des matériaux soumis aux ultrasons sont altérés et perturbent lacellule végétale mur ; faciliter la libération de composés et améliorer le transport de masse des solvants dans les cellules végétales (**Dhanani, 2017**).

4.7. Extraction Soxhlet ou extraction continue à chaud

Dans cette méthode, l'échantillon finement broyé est placé dans un sac poreux en un papier filtre solide ou de la cellulose, qui est placé, est dans la chambre du dé à coudre de l'appareil de Soxhlet. Les solvants d'extraction sont chauffés dans acides phénoliques, quacertine et trans-resvératrol car ces molécules étaient stables sous micro-ondes conditions de chauffage jusqu'à 100°C pendant 20 minutes. Cycles supplémentaires de MAE a entraîné une diminution drastique de le rendement en composés phénoliques et flavanones, principalement causés par l'oxydation de composés (**Hartati et al., 2015**).

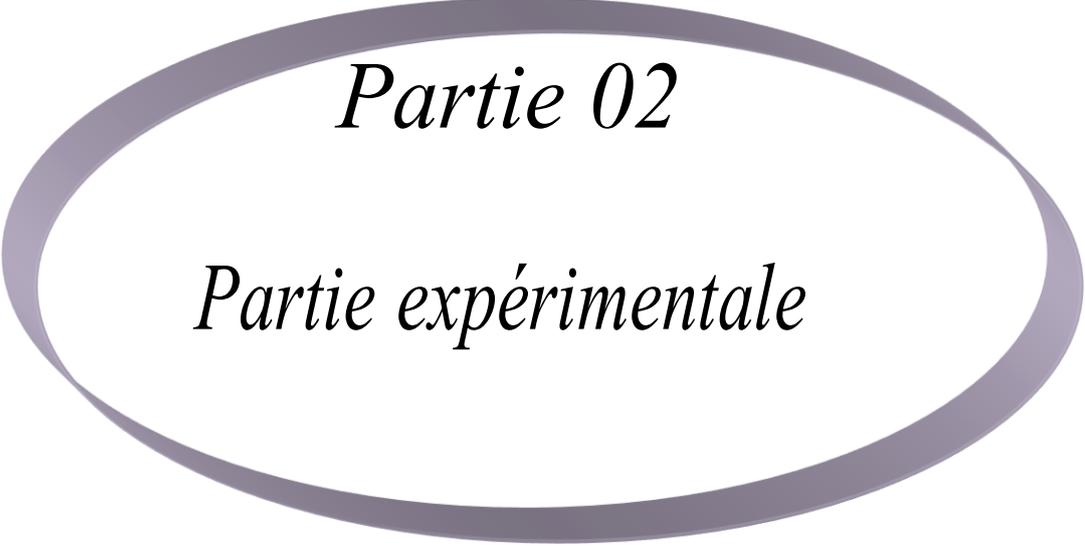
4.8. Extraction au solvants organique

Est une forme efficace d'extraction par solvant liquide par rapport à la macération et à l'extraction Soxhlet car la méthode utilise un minimum quantité de solvant. L'échantillon est emballé avec un matériau inerte tel que du sable dans la cellule d'extraction en acier inoxydable pour empêcher l'échantillon de s'agréger et de bloquer la tubulure du système (**Rahmalia et al., 2015**) Cellule ASE emballée comprend des couches de mélange sable-échantillon entre le papier filtre en cellulose et des couches de sable. Cette technologie d'extraction automatisée est capable de contrôler la température et la pression pour chaque

échantillon individuel et nécessite moins d'une heure pour l'extraction (**Rahmalia et al., 2015**).

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils, mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances. (**Hubert, 1992**). En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient des hydrolysats (eau comme solvant), des alcoolats (éthanol dilué), des teintures (éthanol/eau), des résinoïdes (extraits éthanoliques concentrés) et des concrètes (extraits à froid et à chaud au moyen de solvants divers) (**Hernandez, 2005**).

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer, dans un extracteur, un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. Cependant, les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de la vapeur d'eau (**Lucchesi, 2005**). Face à cette situation, deux nouvelles techniques ont été mises au point, ces dernières années, pour la distillation des substances d'arômes à partir des plantes : l'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction par le CO₂ supercritique.



Partie 02

Partie expérimentale



Matériel et méthodes

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Cadre et objectifs de l'étude

1.1.1. 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 Cheikh Laarbi Tebessi**, Faculté des sciences exactes et de la nature et de vie.

1.1.2. Objectifs de l'étude (Rappel)

Notre étude a eu pour objectifs :

- Évaluation du rendement d'extraction a partir de la partie aérienne (**Feuilles**) après macération avec les différents solvants alcooliques et acetoniques et évaporation par Rotavap.
- Appréciation de l'activité antibactérienne 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.
- Évaluation comparative de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs par rapport aux antibiotiques antiStaphylococciques.

1.2. Matériel

1.2.1. Matériel biologique

1.2.1.1. Matériel végétal

La plante médicinale objet de notre étude genre *Laurus* (nom commun Rand) achetée à partir d'un herboriste de la région de Bir el Ater (wilaya de Tebessa) sous forme sèche.

2.1.1.1. Présentation de la plante médicinale

Laurus est un arbuste à feuillage persistant de la famille des lauracées. Il est originaire du bassin méditerranéen il est parfois appelé Laurier d'Apollon ou Laurier noble (**Rivera et Obton, 1995**) La famille des *Lauracées* comprenant de 2500 à 3000 espèces distribuées par monde. Celles-ci sont réparties en 54 genres dans les zones tropicales et subtropicales comme indiqué sur la figure (**Figure 7**). Cette famille est peu représentée en Afrique mais très fréquente sur le continent American ou Asiatique, en Australie et à Madagascar. (**Tableau 6**).

Cet arbuste se distingue par son feuillage vert foncé aromatique, dense et persistant a croissance assez rapide. Cette plante spontanée pousse abondamment dans les forêts et les montagnes. C'est une espèce herbacée de 7à10 m de longueur et 4à7 m de largeur. Comme beaucoup de Lauracées, *Laurus* connu pour ses molécules bioactives (**Benmara Et Rais, 2018**).



Figure 7. Distribution des lauracées à travers le monde (**Benmara et Rais, 2018**)

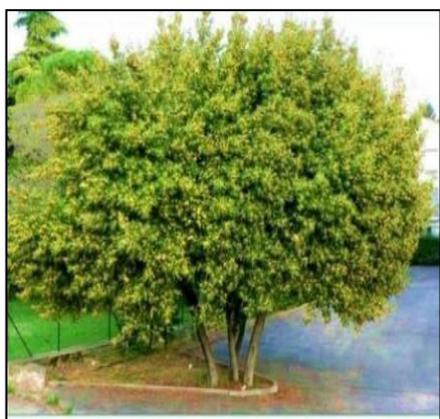


Figure 8. Arbre de laurier
(Yakhlef, 2010)



Figure 9. Feuilles fraîche de laurier
(Yakhlef, 2010)



Figure 10. Feuilles sèches (photo
personnelle, 2023)

Tableau 6. Classification botanique de *Laurus* d'après (Quezel et santa, 1962)

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylidones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	<i>Laurus</i>

2.1.1.2. Description botanique

Laurus est un arbuste de 2 à 10 m, il pousse spontanément dans les forêts du rif oriental et occidental et le Moyen Atlas. *Laurus* fait partie des plantes couramment utilisées dans la production des huiles essentielles et extraits aromatique. Les feuilles sont exportées annuellement avec une moyennetonnes (Hceflcd, 2008). Elles dégagent une odeur aromatique caractéristique lorsqu'elles sont froissées, elles sont condimentaires, très utilisées par l'industrie agroalimentaire surtout par les conserveries des poissons. Aussi, la plante peut être utilisée traditionnellement en phytothérapie (Dias et al., 2014).

1.2.1.2. Souches bactériennes

Pour évaluer l'activité antibactérienne de trois types d'extraits de la plante de *Laurus* des souches bactériennes de Staphylocoques : *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus épidermidis* isolées à partir de la pathologie infectieuse humaine ont été utilisés pour tester nos extraits ainsi que nos antibiotiques (Tableau7) (Figure 11)

Tableau 7. Isolats de Staphylocoques collectées à partir des différentes localisations infectieuses

Ordre	Souches	Origine	Sexede patient	Âge
01	<i>S. aureus</i>	Infection urinaire	Femme	Adulte
02	<i>S. aureus</i>	Infection cutanée	Homme	43 ans
03	<i>S. aureus</i>	Infection cutanée	Homme	Adulte
04	<i>S. aureus</i>	Infection cutanée	Homme	08 mois
05	<i>S. aureus</i>	Infection génitale	Femme	52 ans
06	<i>S. aureus</i>	Infection urinaire	Femme	37 ans
07	<i>S. aureus</i>	Infection cutanée	Homme	14 ans
08	<i>S. aureus</i>	Infection cutanée	Homme	24 ans
09	<i>S. aureus</i>	Infection cutanée	Femme	2 ans
01	<i>S. épidermidis</i>	infection cutanée	Femme	40 ans
02	<i>S. épidermidis</i>	Infection cutanée	Homme	34 ans

2.1.3 Solvants

Différents solvants ont été utilisés pour réaliser les extractions par macération ainsi que les différents dilutions des extraits pour l'étude de l'activité antibactérienne.

- Méthanol absolu
- Méthanol 75%
- Acétone
- Diméthylsulfoxyde (DMSO)

2.1.4 Milieux de culture

Différents milieux de cultures ont été utilisées pour l'isolement des souches ; s'assurer de leurs puretés et étudier leurs sensibilités aux antibiotiques et aux différents extraits (**Figure 13**).

- **Milieu Chapman:** Milieu sélectif pour les Staphylocoques.
- **Milieu Muller Hinton:** Milieu pour étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et aux extraits de plantes.
- **Gélose nutritif:** Milieu riche pour conserver les souches

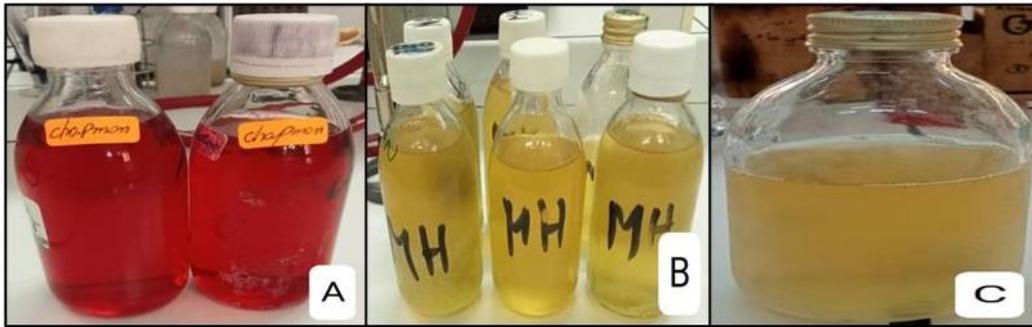


Figure 11. Milieux de culture (photo personnelle, 2023) **A.** Chapman ; **B.** Muller Hinton

C. Gélose nutritif

2.1.5. Appareillages

- **Étuve Bactériologique** : incubation des cultures bactériennes.
- **Balance de précision** : mesure des poids.
- **Agitateur magnétique** : préparation des milieux de culture.
- **Autoclave** : autoclavage des milieux de culture lors de la préparation.
- **Stérilisateur** : pour stérilisation les matériaux (métalliques ou en verre).

2.1.6. Verreries et petits consommables

- Écouvillons bactériologiques
- Pipettes pasteur stériles
- Disques d'antibiotiques
- Boîtes de pétri en plastiques
- Papiers Whatman
- Tubes à essai stériles
- Flacons stériles
- Béchers
- Tubes Eppendorf
- Emboues de différents calibre

3.1.7. Disques d'antibiotiques antistaphylococcique

Différents molécules des antibiotiques commercialisés sous forme de disques chargés ont été utilisées pour étudier la sensibilité de nos isolats vis à vis de ces molécules (**Figure 12**).

- **Gentamicine CN10**
- **Erythromycine E30**
- **Ciprofloxacine CIP10**
- **Clindamycine CD2**
- **Cefoxitine FOX30**



Figure 12 . Disques d'antibiotiques antistaphylococcique (**photo personnelle, 2023**)

1.3. Méthodes

3.1. Conservation des souches

Les souches bactériennes collectés préalablement identifiées ont été conservés dans des tubes de conservation de gélose par piqûre centrale en profondeur (**Figure 14**).

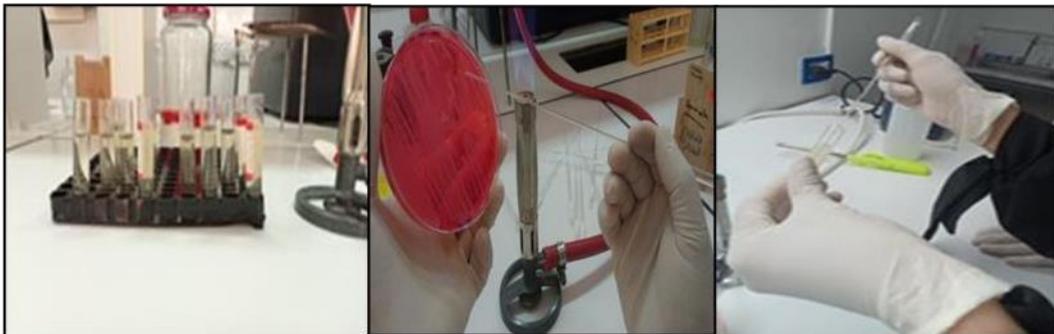


Figure 13. Différentes étapes de conservation des souches bactérienne collectées (**photo personnelle, 2023**)

3.2. Extraction des substances bioactives à partir de la plante

3.2.1. Protocole d'extraction

Le protocole adopté pour faire l'extraction (Méthanolique absolu, Méthanolique 75%, Acétonique), a été effectué en trois étapes essentielles : Macération, Filtration et Evaporation (**Duletić-Laušević et al., 2019**).

3.2.1.1. Extraction méthanolique 75 %

15g de matériel végétale des feuilles de la plante Laurus séches et broyés jusqu'au obtention d'une poudre ; cette dernière a été mis en incubation avec 120 ml pendant 24h, suivi d'une étape de filtration sur papier wagtman et enfin élimination du solvant par évaporation par rotavap à 37°C pendant 30 minutes (**Figure 15**).

3.2.1.2. Extraction méthanolique absolu

25g de matériel végétale des feuilles de la plante Laurus séches et broyés jusqu'au obtention d'une poudre ; cette dernière a été mis en incubation avec 150 ml pendant 5 jours, suivi d'une étape de filtration sur papier wagtman et enfin élimination du solvant par évaporation par rotavap à 37°C pendant 30 minutes (**Figure 14**).

3.2.1.3. Extraction acétonique

15g de matériel végétale des feuilles de la plante Laurus séches et broyés jusqu'au obtention d'une poudre ; cette dernière a été mis en incubation avec 135 ml pendant 24h, suivi d'une étape de filtration sur papier wagtman et enfin élimination du solvant par évaporation par rotavap à 37°C pendant 30 minutes (**Figure 15**).

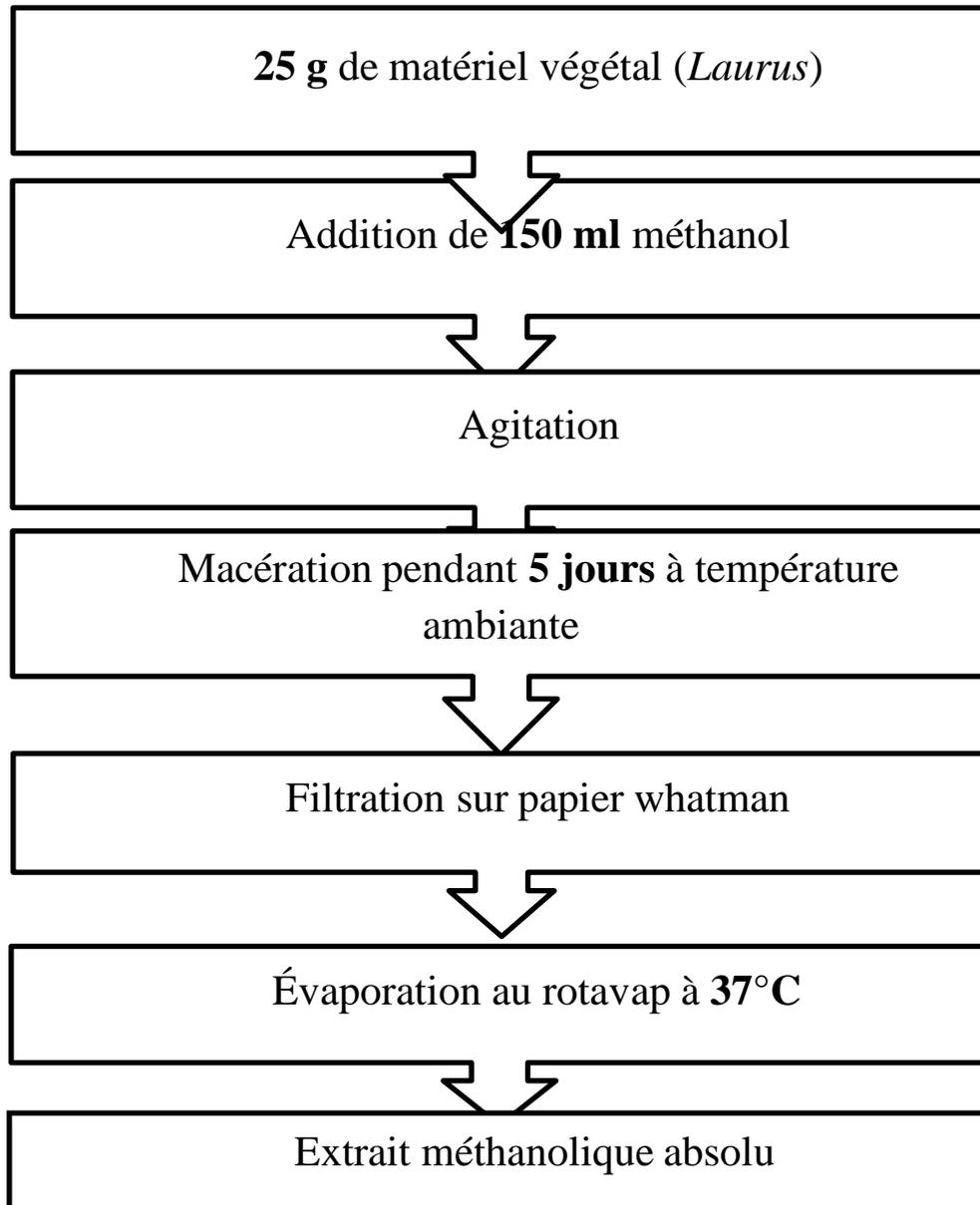


Figure 14. Protocole d'extraction méthanolique absolu des feuilles de la plante *Laurus*

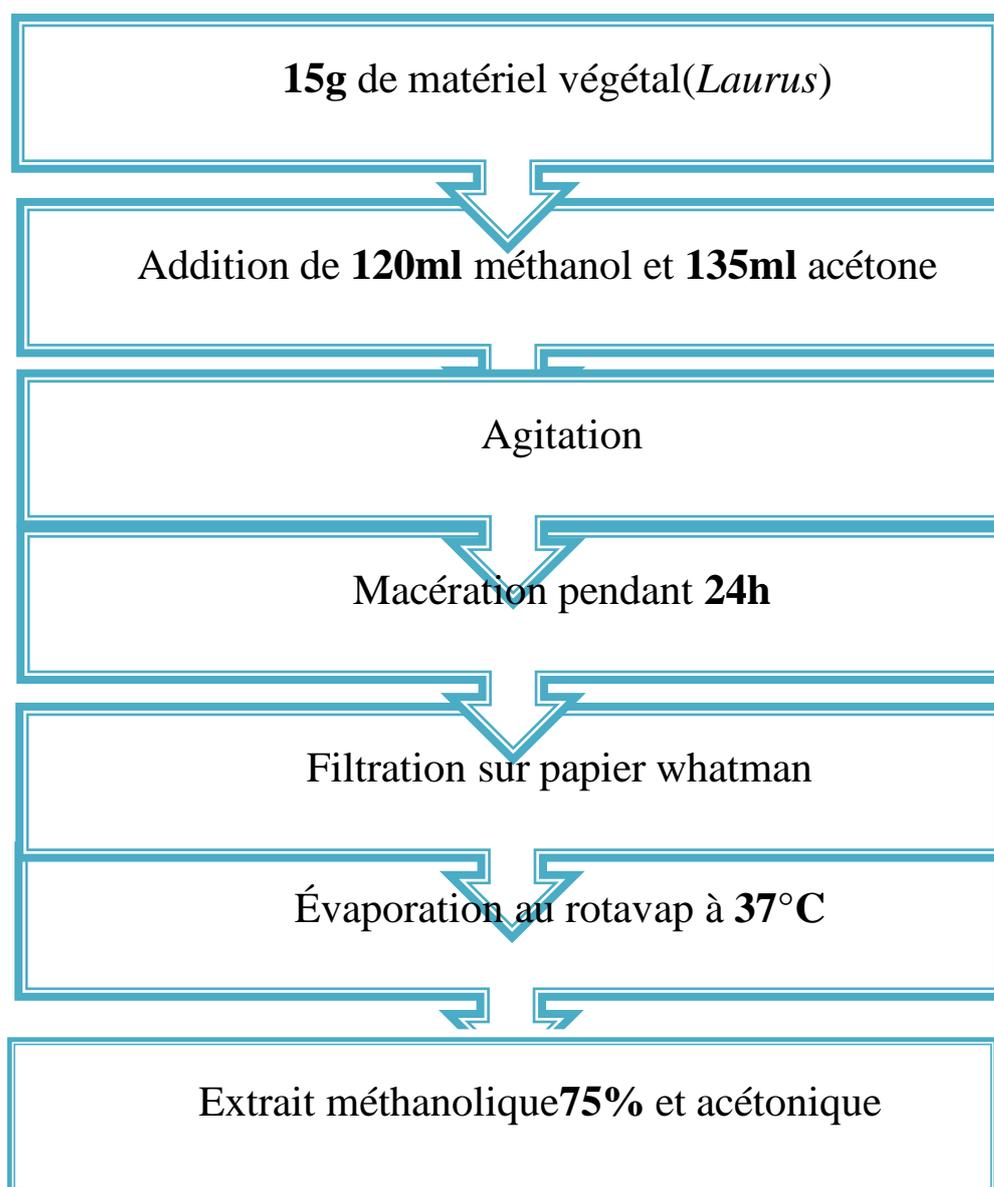
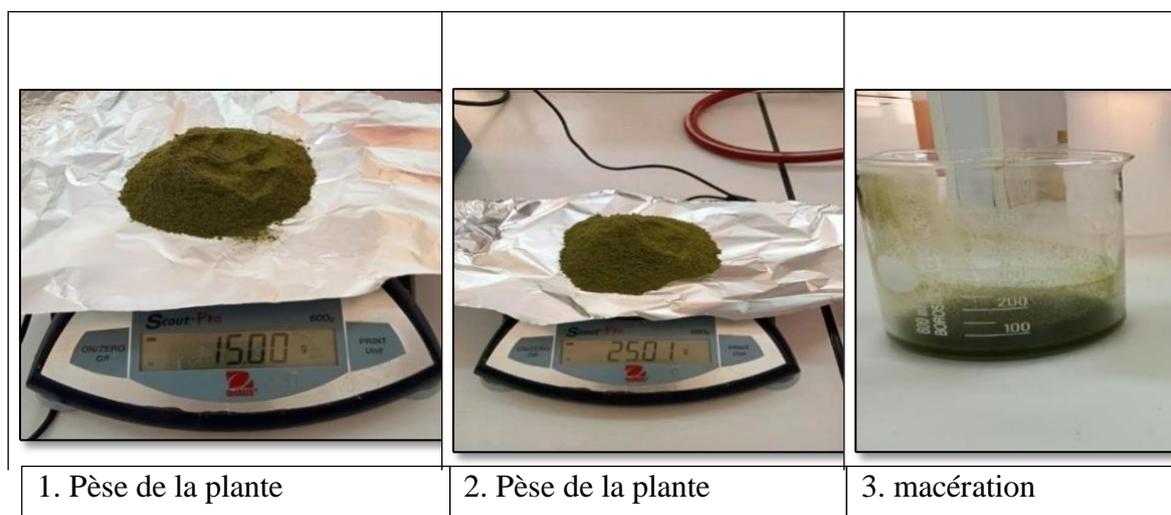


Figure 15. Protocole d'extraction méthanolique 75% et acétonique des feuilles de la plante *Laurus*



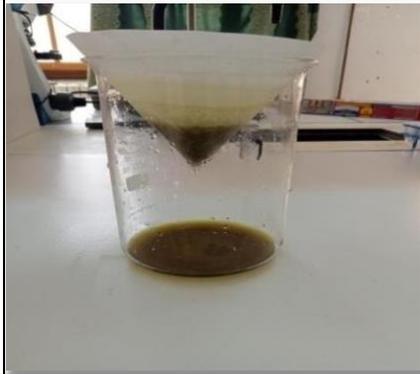
		
4. Filtration	5.Évaporation des solvants	6. Aspect final des extrait

Figure 16. Différentes étapes de l'extraction de la plante *Laurus* (Photos Personnelle, 2023)

3.3. Calcul du rendement de l'extraction

le rendement désigne la masse de l'extrait déterminer après évaporation de solvants, il est exprimé en pourcentage% par apport à la masse initiale de la plante ou mise à l'extraction. Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante

$$R (\%) = \frac{M}{M_0} \times 100 R(\%)$$

M₀= Masse du végétal à traiter

M= Masse de l'extrait

R= Rendement (%)

3.4. Évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits

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

Pour faire l'évaluation de l'activité antibactérienne des trois extraits de feuilles de *Laurus*, les Souches conservés ont été réisolés sur milieu de culture type Chapman pour avoir des cultures Jeunes et pures, l'ensemencement se fait à l'aide d'une pipette pasteur par des stries puis les en incubent à 37 C pendant 24h. Des suspensions bactériennes ont été préparées et ajustée à une densité optique de **0,5 McFarland** qui correspond à **1 à 2x10⁸ UFC/ml** (Figure 17).



Figure 17. Différentes étapes de récupération des souches bactérienne conservées
(Photo personnel, 2023)



Figure 18. Préparation de la suspension bactérienne (photos personnelle, 2023)

3.4.2. Préparation de la solution mère et des différentes dilutions des extraits

Pour réaliser nos test une solution mère a été préparer en déposant 100mg de chaque extrait dans 1 ml de DMSO pour avoir une concentration de (100 mg /ml). Une série de dilution a été réaliser a partir de la solution mère (1/2, 1 /4, 1/8) ce qui correspond a des dilutions finales de : 50mg /ml, 25mg/ml, 12.5 mg/ml (**Figure 19**).

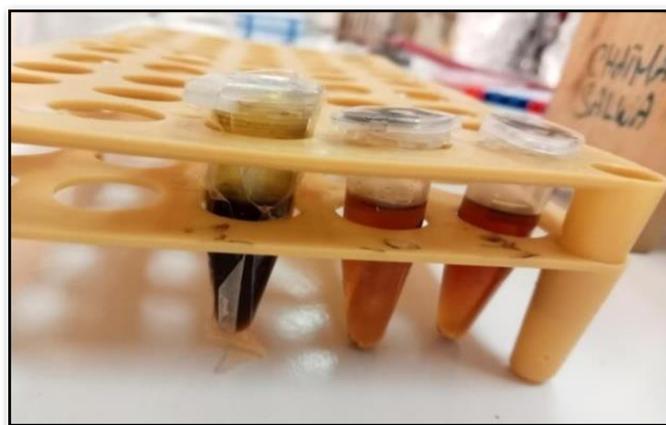


Figure 19. Solution mère et différentes dilutions des extraits préparées (photo personnelle, 2023)

3.4.3. Étude de l'activité antibactérienne des extraits par la méthode des puits

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) ce qui a des concentrations finales de 10 mg/1 ml, 5mg/1ml, 2,5mg/1ml et 1,25 mg/1ml, 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. Toutefois un Témoin négatif (DMSO) et positif représenté par des les antibiotiques.



Figure 20. Méthodes des puits et applications des extraits (photo personnelle, 2023)

3.4.4. Lecture et interprétation des résultats

La lecture des résultats après incubation en mesurant les différentes zones d'inhibition sa pied a coulisse et interprétation des résultats suivant une grille établit par (**Hamidi, 2013**) (**Ponce et al., 2003**)

- **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

3.4.5. Étude de la sensibilité des souches bactériennes de Staphylocoques aux antibiotiques

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 *Laurus*. 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 antistaphylococcique sont déposés sur cette surface ensemencée ; les boîtes sont incubés à l'étuve à 35 ± 0.5 pendant 24 h.

3.5. Lecture Interprétation des résultats de l'antibiogramme des différents souches testés

Après la mesure des diamètres des zones d'inhibition nos résultats on été interpréter on utilisant la table fournit par le commute CLSI (**Tableau 8**)

Tableau 8. Table d'interprétation des diamètre des zones d'inhibition enregistrer avec différents antibiotiques

ATB	Diamètres des zones d'inhibition		
	S	I	R
Gentamicine	≥ 15	13-14	≤ 12
Erythromycine	≥ 23	14-22	≤ 13
Ciprofloxacine	≥ 21	16-20	≤ 15
Clindamicyne	≥ 21	15-20	≤ 14
Cefoxitine	≥ 22		≤ 21



Résultats

1. Récupération des souches bactériennes

Après incubation de notre souche bactérienne à 37° pendant 24h on a obtenu des colonies isolées avec lesquels on a préparées des suspension mère de différentes souches afin d'effectuer des antibiogrammes et des aromatoigrammes des résultats suivants (**Figure 21**).



Figure 21. Souche *staphylococcus* utilisées (photos personnelles, 2023)

2. extraction des substances bioactives de la plane *Laurus* avec différents solvants

2.1. Aspect macroscopique de différents extraits

L'extraction avec les deux types de solvants (Méthanol, Acétone) et l'élimination de ces derniers par l'évaporateur rotatif a permis de récupérer nos extraits avec différents rendement et aspect organoleptique (**Figure 22**) (**Tableau 8**).



Figure 22. Aspect macroscopique des extraits préparés (photo personnelle, 2023)

Tableau 9. Caractères organoleptiques de différents Extraits (**méthanolique absolu, méthanolique 75 % et acétonique**)

Extrait	Couleur	Odeur
Methanolique absolu	Marron	Forte et agréable
Methanolique 75%	Marron claire	Forte et agréable
Acétonique	Noire	Forte et piquant

1.2. Rendement de l'extraction effectuée avec différents solvants

Le calcul de rendement a permis de déduire que le rendement de l'extraction acétonique (**16%**) été meilleur que les deux rendements méthanolique absolu et méthanolique a 75 % avec lesquelles on a enregistré (**12%**) et (**2%**) respectivement.

a) Rendement de l'extrait Acétonique

Masse de la végétale à traiter : **15 g**

Masse de l'extrait : **2 g**

Rendement (%) = 16%

$$\mathbf{R\% = 2/15 \times 100 = 16\%}$$

b) Rendement de l'extrait méthanolique 75%

Masse de la végétale à traiter : **15 g**

Masse de l'extrait : **1.8 g**

Rendement (%) = 12%

$$\mathbf{R\% = 1,8/15 \times 100 = 12\%}$$

c) Rendement de l'extrait méthanolique absolu

Masse de la végétale à traiter : **25 g**

Masse de l'extrait : **0,5 g**

Rendement (%) = 2%

$$\mathbf{R\% = 0.5/25 \times 100 = 2\%}$$

1.3. Activité antibactérienne des différents Extraits

1.3.1. Activité antibactérienne observé avec l'extrait méthanolique absolu

La mesure de la zone d'inhibition des différentes dilutions de l'extrait méthanolique absolu 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 **20mm** mais seulement avec une seule souche de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Le diamètre d'inhibition le plus enregistré est celui entre **15mm et 20mm** avec la solution mère surtout, suivi des dilutions **1/2 et 1/4 et 1/8**. Le diamètre correspond à une très bonne activité antibactérienne (Figure 23, 24).

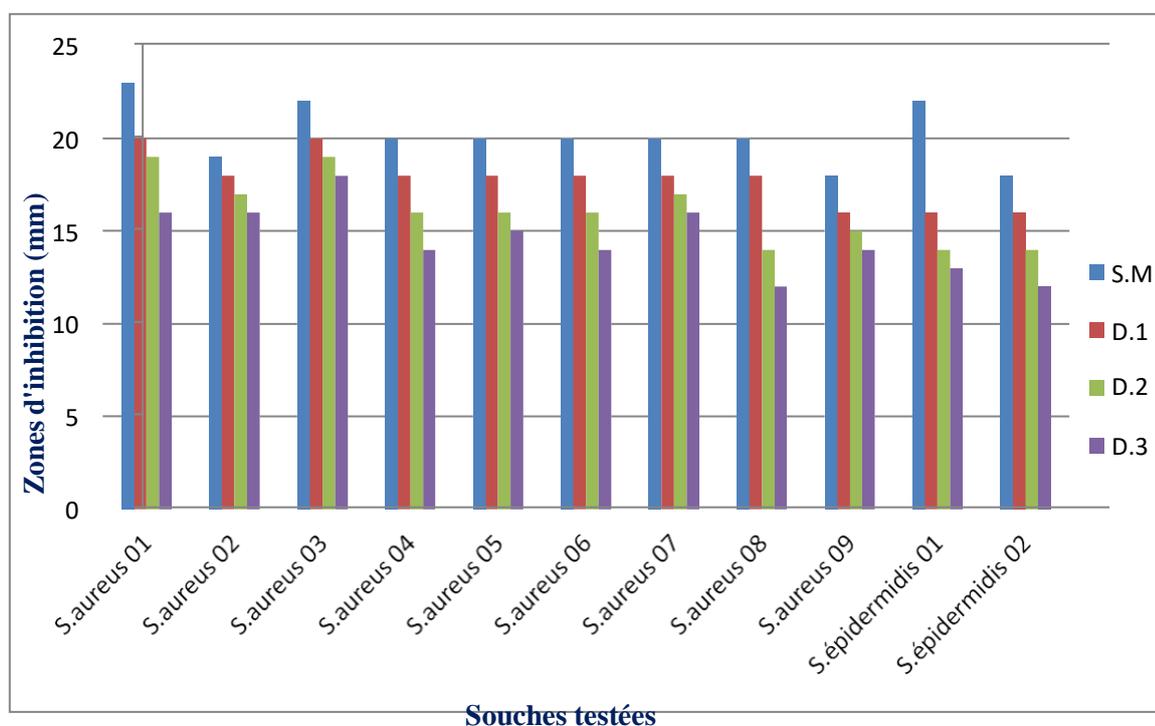


Figure 23. Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique absolu (photo personnelle, 2023)

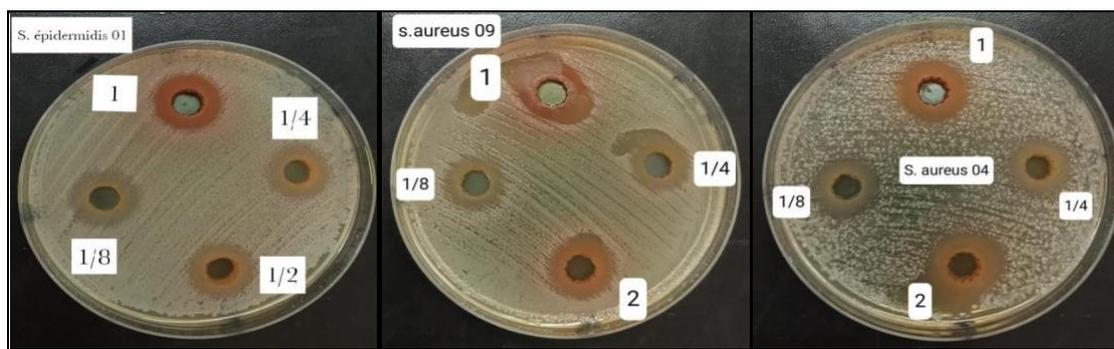


Figure 24. Zones d’inhibition de l’extrait méthanolique absolu sur quelques souches testées (photo personnel, 2023)

1.3.2. Résultat de l’activité antibactérienne observé avec l’extrait Méthanolique 75%

La mesure de la zone d’inhibition des différentes dilution de l’extrait méthanolique 75% a permis de conclure que la meilleure activité antibactérienne a été enregistrée avec la solution mère et en deuxième lieu avec la dilution 1/2 avec des diamètres entre 15mm et ≤ 20 mm ce diamètre correspond à une très bonne activité antibactérienne. On a noté l’absence des diamètres supérieurs à 20mm qui ont été enregistrés avec l’extrait Méthanolique absolu (Figure 25, 26).

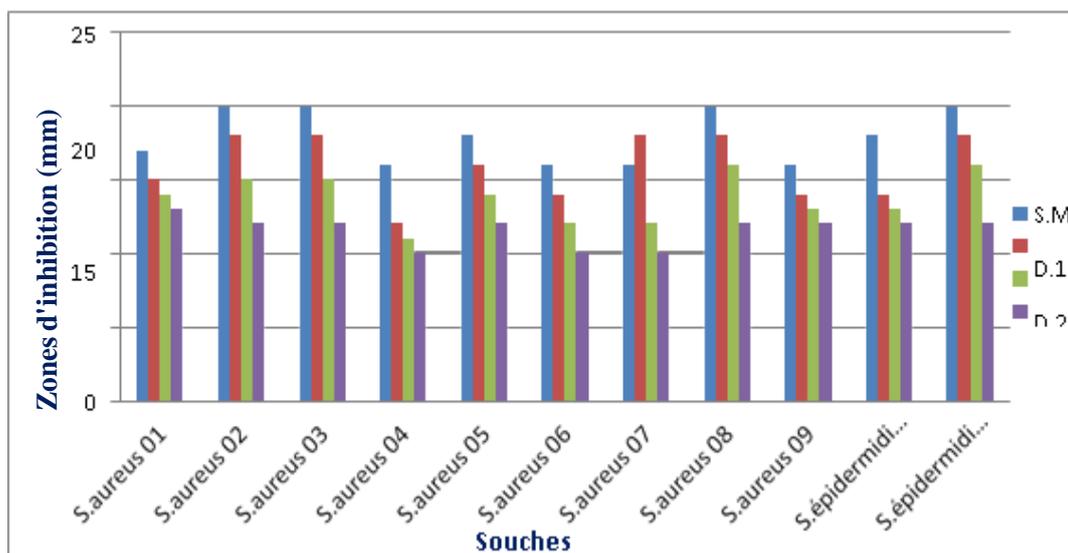


Figure 25. Activité antibactérienne de l’extrait méthanolique 75% (photo personnelle, 2023)

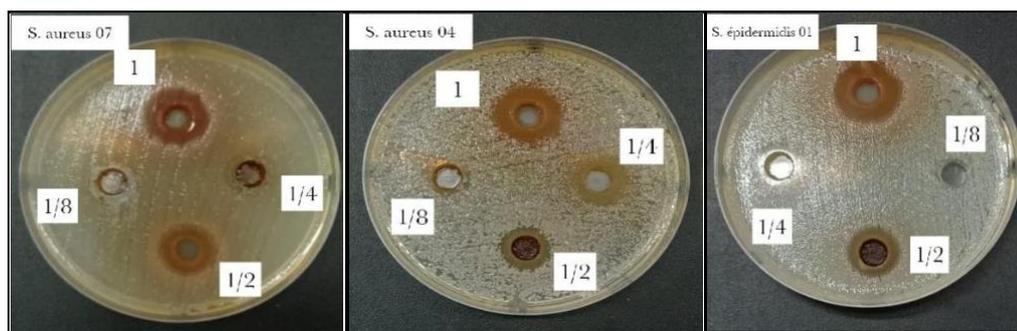


Figure 26. Zones d'inhibition de l'extrait méthanolique sur quelques souches testées (photo personnelle, 2023)

1.3.3. Activité antibactérienne observée avec l'extrait acétonique

La mesure de la zone d'inhibition des différentes dilutions de l'extrait acétonique a permis de conclure que la meilleure activité antibactérienne a été enregistrée avec la solution mère avec des diamètres supérieurs à 20 mm et entre 15 et 20 mm observés avec 5 souches parmi 09 *Staphylococcus aureus* et une souche de *Staphylococcus épidermidis* et 04 souches parmi 09 *Staphylococcus aureus* ce qui correspond à une très bonne et une excellente activité antibactérienne (Figure 27, 28).

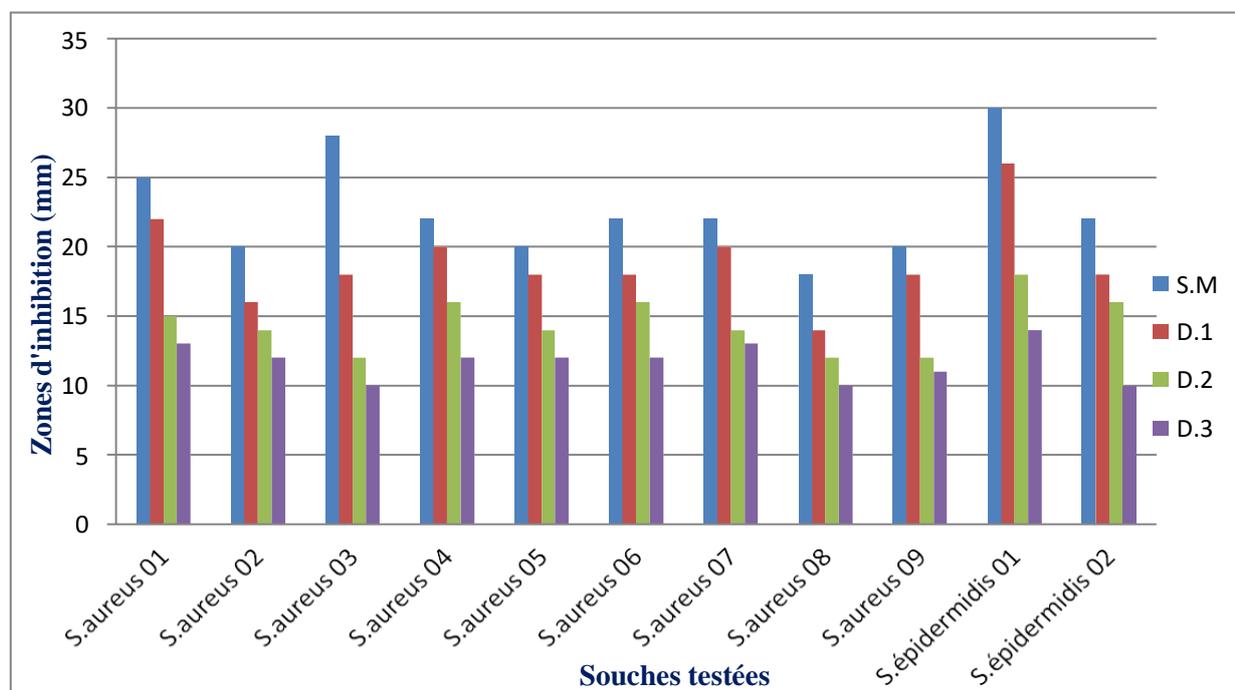


Figure 27. antibactérienne de l'extrait acétonique vis-à-vis des souches testées (photo personnelle, 2023)

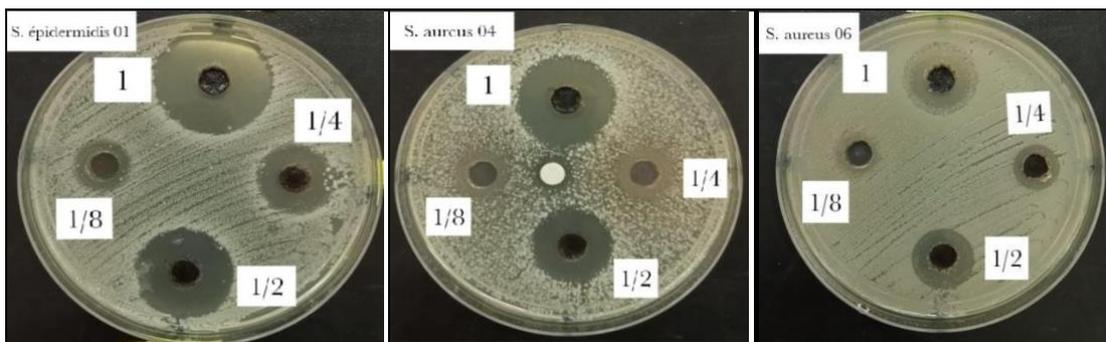


Figure 28. Zones d’inhibition de l’extrait acétonique sur quelques souches testée (photo personnelle, 2023).

1.3.3. Activité antibactérienne observé avec la suspension mère

Mesure de la zone d’inhibition des suspensions mère des différents extraits a permis de conclure que la meilleure activité antibactérienne a été enregistrée avec l’extrait acétonique des diamètres comprise entre 20 mm et 30 mm observés avec 05 souches parmi 09 *Staphylococcus aureus* et 02 souche de *Staphylococcus epidermidis* parmi les deux *Staphylococcus epidermidis* ce qui correspond aune excellente activité antibactérienne (Figure 29).

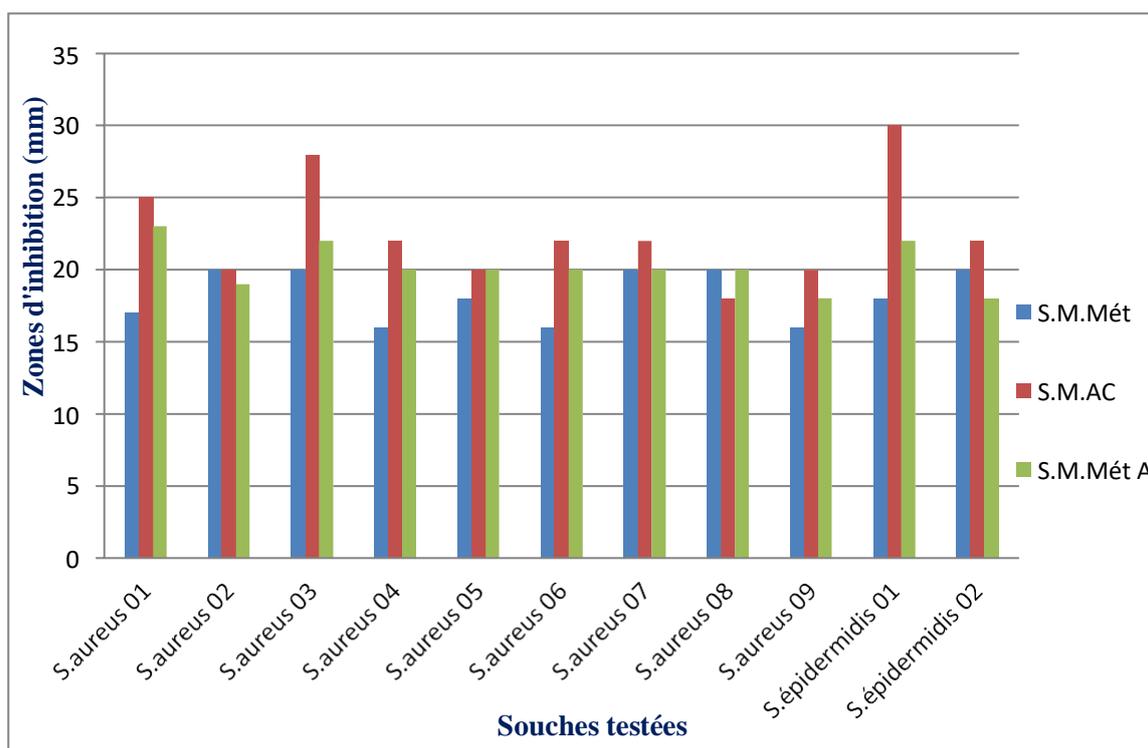


Figure 29. Activité antibactérienne de suspension mère de différents extraits vis-à-vis des souches testée (photo personnelle, 2023)

1.3.4. Activité antibactérienne observé avec la Dilution 1/2

La mesure de la zone d'inhibition de dilution 1/2 des différentes extrait a permis de conclure que la meilleur activité antibactérienne a été enregistrée avec l'extrait acétonique des diamètres comprise entre 20 mm et 30 mm observés avec 03 souches parmi 09 *Staphylococcus aureus* et 01 souches de *Staphylococcus épidermidis* parmi les deux *Staphylococcus épidermidis*ce qui correspond à une excellente activité antibactérienne (**Figure 30**).

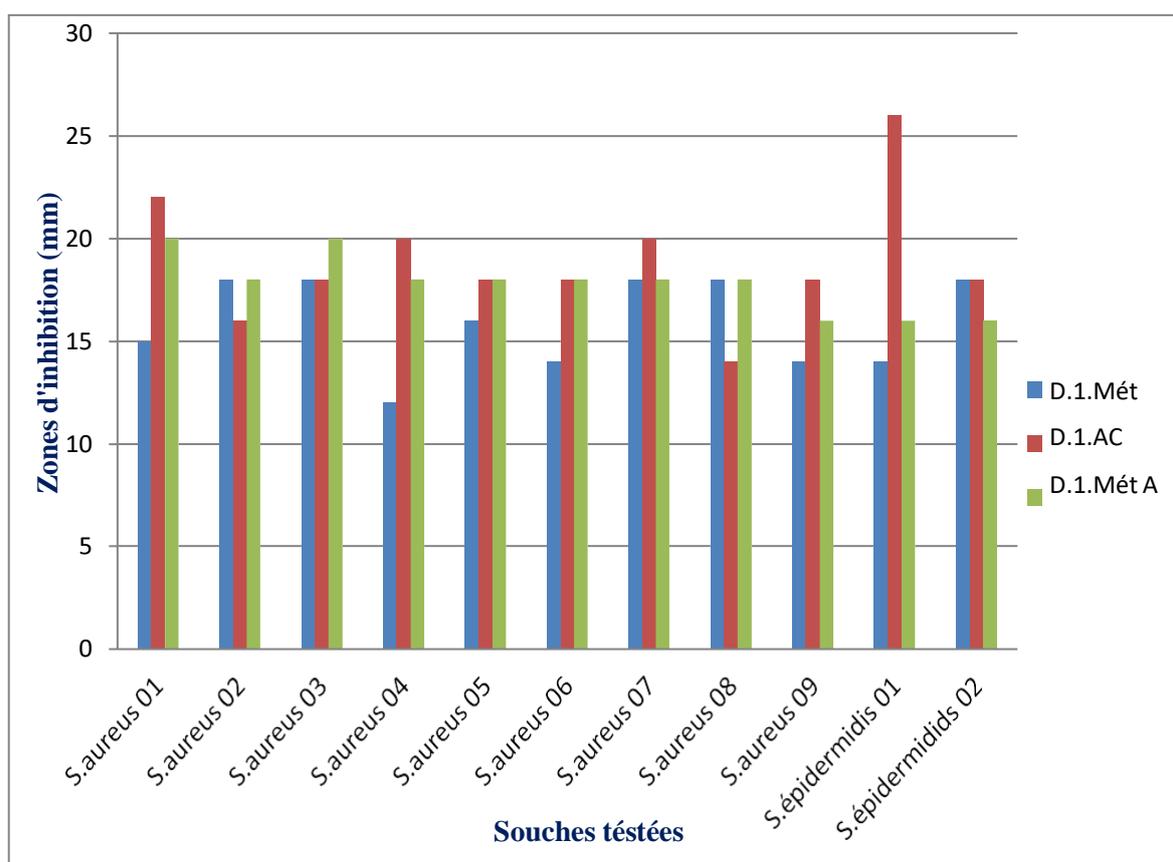


Figure 30. Activité antibactérienne de dilution 1/2 de différents extraits vis-à-vis les souches testées (photo personnelle, 2023)

1.3.5. Activité antibactérienne observé avec la Dilution 1/4

La mesure de la zone d'inhibition de dilution 1/4 des différentes extrait a permis de conclure que la meilleure activité antibactérienne a été enregistrée avec l'extrait méthanolique absolu des diamètres comprise entre 15 mm et 20 mm observés avec 08 souches parmi 09 *Staphylococcus aureus* ce qui correspond à une bonne activité antibactérienne (**Figure 31**).

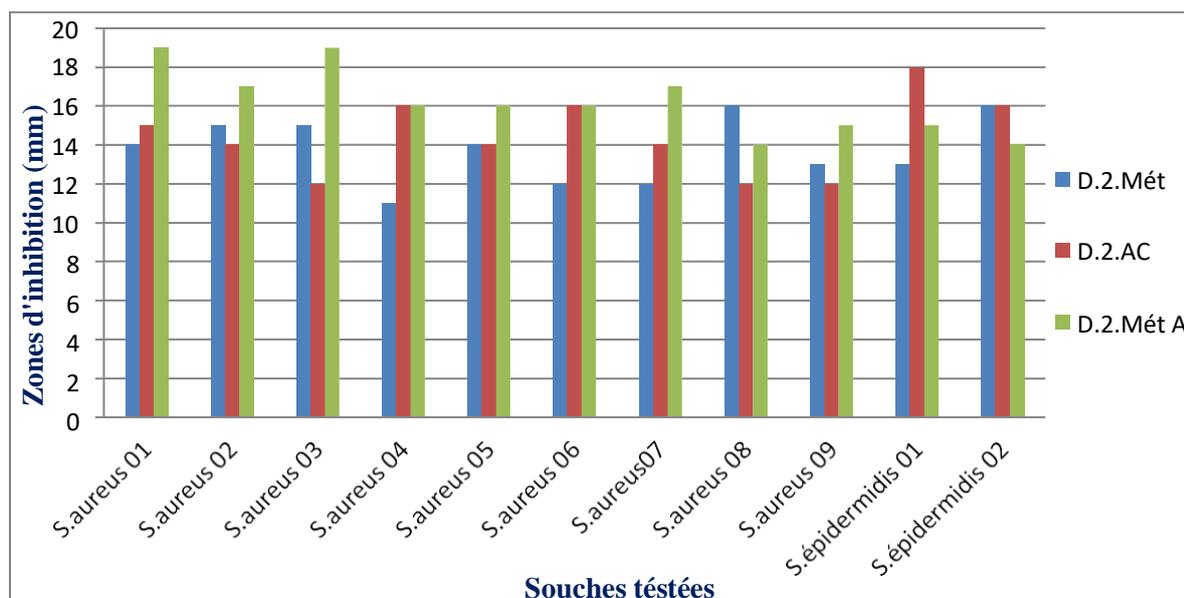


Figure 31. Activité antibactérienne de dilution 1/4 de différents extraits vis-à-vis des souches testée (photo personnelle, 2023)

1.3.6. Activité antibactérienne observé avec la Dilution 1/8

La mesure de la zone d'inhibition de dilution 1/8 des différentes extrait a permis de conclure que la meilleure activité antibactérienne a été enregistrée avec l'extrait méthanolique absolu des diamètres comprise ente 15 mm et 20mm observés avec 05 souches parmi 09 *Staphylococcus aureus* ce qui correspond a une bonne activité antibactérienne (Figure 32).

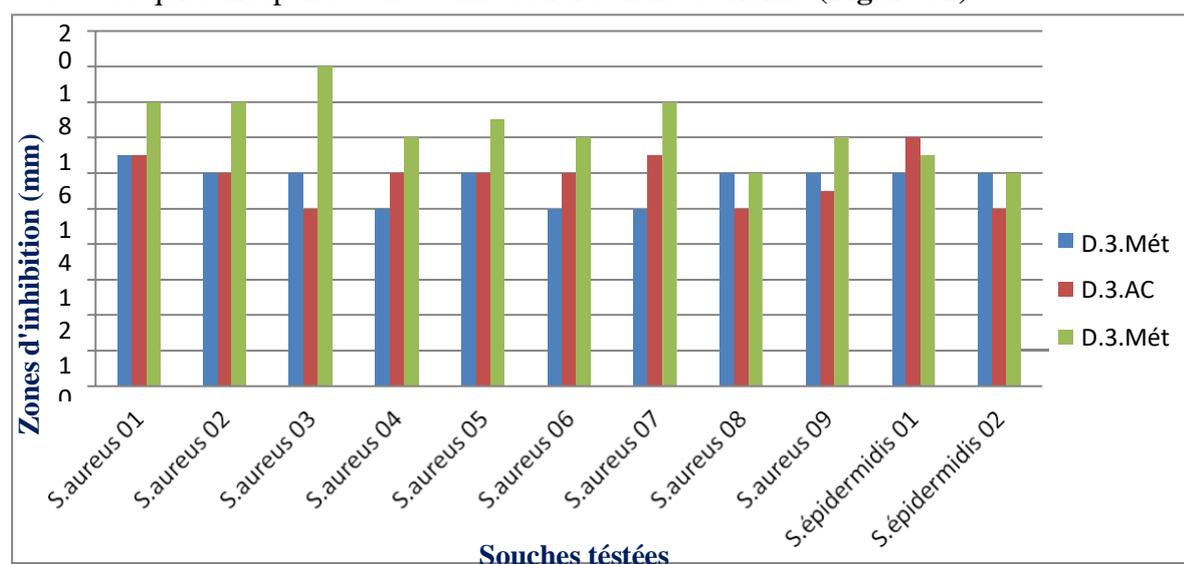


Figure 32. Activité antibactérienne de dilution 1/8 de différents extraits vis-à-vis les souches testée (photo personnelle, 2023)

1.3.7. Etude comparative entre les deux protocoles d'extraction d'extrait méthanolique absolu et méthanolique 75%

La mesure de la zone d'inhibition de suspension mère et toutes les dilutions (1/2, 1/4, 1/8) de deux extraits a permis de conclure que la meilleure activité antibactérienne a été enregistrée avec l'extrait méthanolique absolu avec des diamètres entre (≥ 15 et < 30) (**Figure 33**).

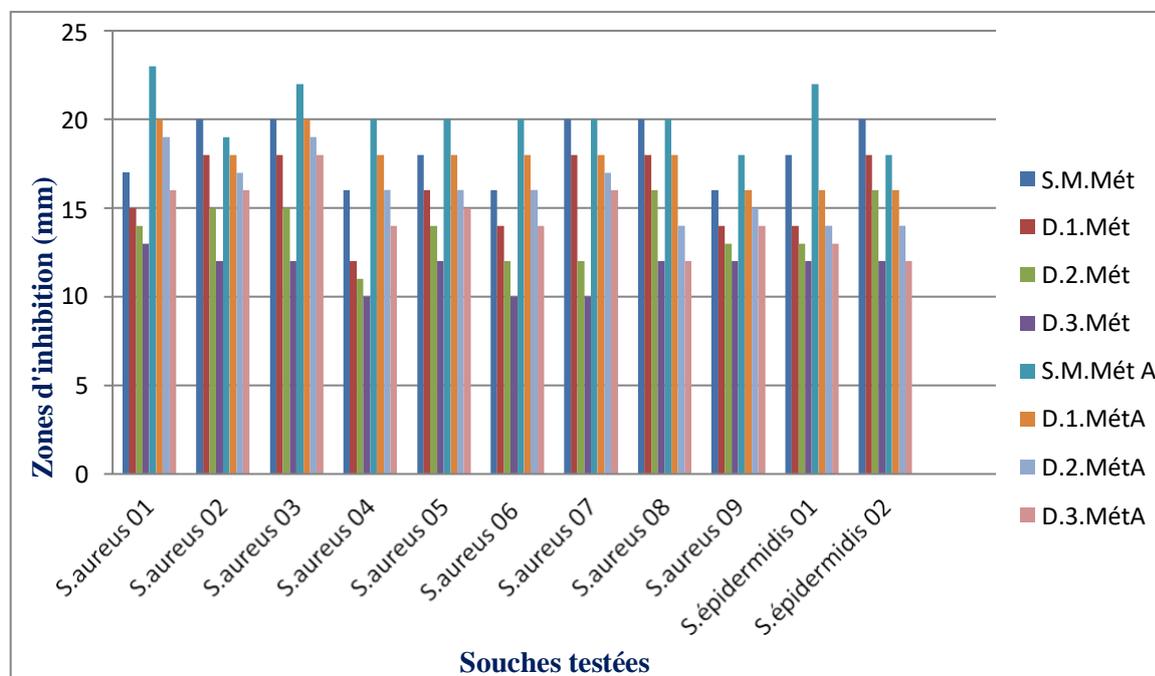


Figure 33. Etude comparative de l'activité antibactérienne de deux extraits méthanolique absolu et méthanolique 75% (photo personnelle, 2023)

1.3.8. Etude 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 (**Tableau 12**) (**Figure 34, 35**)

Tableau 10. Profils de sensibilité des souches bactérienne aux antibiotiques et aux extraits bioactifs

Les souches testée	Molécules d'antibiotiques utilisée					Extrait utilisée	Activité
	Cn	CIPRO	E	CD	FOX		
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	I	S	S	Extrait A, MA, M	Excellente; Très bonne
	S	S	S	S	R	Extrait A, MA, M	Excellente; Très bonne
	S	S	S	S	S	Extrait A, MA, M	Excellente; Très bonne
	S	S	R	S	S	Extrait A, MA, M	Excellente; Très bonne
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	S	S	R	R	R	Extrait A, MA, M	Excellente ; Très bonne
	S	S	R	S	R	Extrait A, MA, M	Excellente; Très bonne

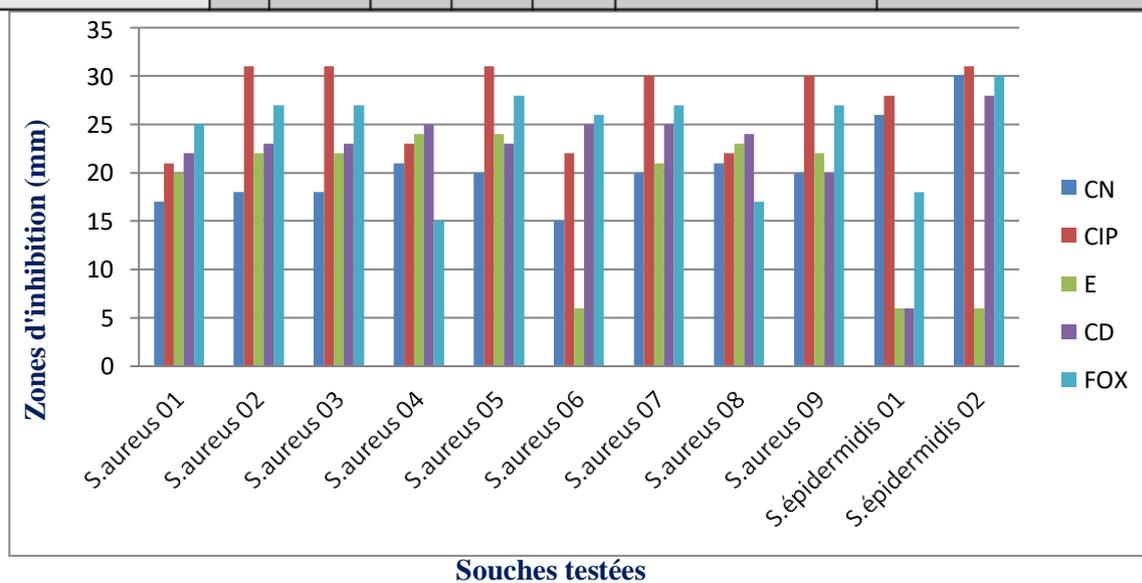


Figure 34. Activité antibactérienne des antibiotiques antistaphylococcique vis-à-vis des souches testées (photo personnelle, 2023)

1.3.9. Résultats de la Détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques

La détermination des profils de sensibilités a permis de révéler quatre profils avec *Staphylococcus aureus* et deux profils avec *Staphylococcus épidermidis* (Tableau12).

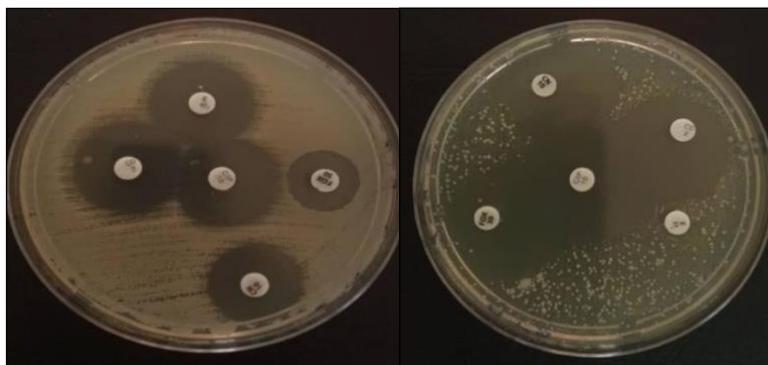


Figure 35. Antibiogramme antistaphylococcique (photo personnelle, 2023)

Quatre profils avec *staphylococcus aureus*

- Le profil (S S I S S) avec cinq souches
- Le profil (S SSS R) avec deux souches
- Le profil (S SSSS) avec une seule souche
- Le profil (S mS R S S) avec une seule souche

Deux profils avec *Staphylococcus épidermidis*

- Le profil (S S R RR) avec une seule souche
- Le profil (S S R S R) avec une seule souche

1.3.10. Validation des testes

La souche *Staphylococcus aureus* 2 a été utilisée pour valider l'activité antibactérienne des trois extraits par l'utilisation du témoin (DMSO) comme témoin négative et antibiotiques comme témoin positif (Gentamicine, Ciprofoxacin, Clindamycine, Cefoxitine, Erytromycine) (Figure 36).

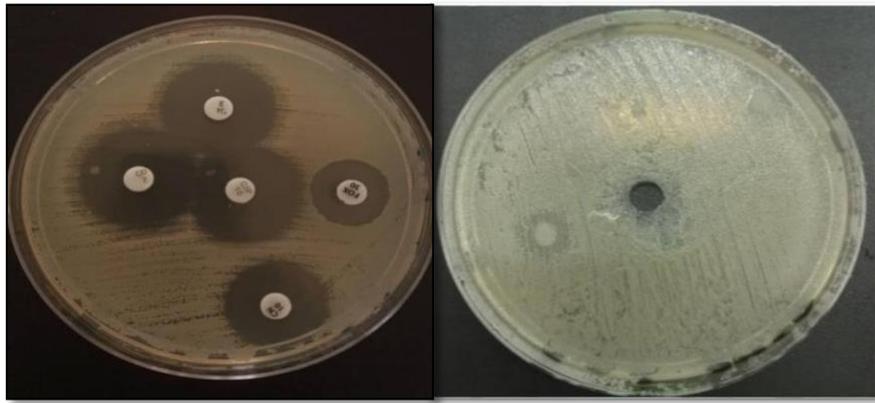


Figure 36. Résultats de validation des tests (photo personnelle, 2023)

Discussion

Pour vaincre la résistance microbienne, la recherche mondiale a déployé de nombreux efforts pour proposer de nouvelles molécules antimicrobiennes alternatives aux antibiotiques. L'origine naturelle a été pendant de nombreuses années la meilleure source de nouvelles molécules antimicrobiennes (Souza et al., 2016).

Dans notre étude le rendement de l'extraction acétonique (16%) était meilleur que les deux autres rendements : méthanolique 75% et methanolique absolu, avec lesquelles on a enregistré (12%) et (2%) respectivement. Cette différence de rendement pourrait être causée par les caractéristiques chimiques des solvants utilisés, en particulier leur polarité, ainsi que les protocoles d'extraction et leurs conditions (Mechergui et al., 2016). Hypothèse qui a été vérifiée dans notre étude sur l'impact de la concentration de solvants et le temps de macération sur le rendement de l'extraction methanolique (75%, 24h) (12%) était meilleur que le rendement méthanolique (absolu, 5jours) avec lequel on a enregistré (2%). (Baycheva et al., 2019) 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 éthanolique d'origan blanc bulgare (*Origanum heracleoticum*), le rendement et la teneur en tanins les plus élevés ont été obtenu avec les extraits éthanolique 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 obtenus ont révélé une excellente ; très bonne et bonne activité des trois extraits avec des intervalles de diamètres (>20mm) (>15 ; ≤ 20mm) et (>10 ; ≤ 15mm) respectivement vis à vis tous les isolats des Staphylocoques testés. Le type de solvant utilisé pour l'extraction des feuilles de *L. nobilis* a un impact majeur sur leur activité antibactérienne. L'extraction éthanolique de *L. nobilis* a donné un extrait avec une très grande activité antibactérienne (Sakran et al., 2021). L'étude de Algabri sur l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique et n-hexane de *laurus* de Libye, a observé que l'extrait n-hexane n'a montré aucune activité antibactérienne mais l'extrait méthanolique avait une bonne activité inhibitrice contre *S. aureus* (Algabri et al., 2018). Nos résultats enregistrés sont meilleurs que celles observés avec (Sakran et al., 2021) ou les diamètres enregistrés non pas dépasser 16.3 mm avec l'extrait éthanolique de *L. nobilis* vis à vis des Staphylocoques.

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 . Nos resultats concordent avec celle de (Otsuka et al 2008) qui ont

rapporté que le *L. nobilis* a une activité antimicrobienne contre *S. aureus* même résistant à la méthicilline (SARM).

Conclusion

Et

perspectives

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'utilisation intensive et abusive des antibiotiques synthétique conventionnelles vise à 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 *Laurus*, on a pu conclure le suivant :

- ❖ Le rendement de l'extraction Acétonique était meilleur que les deux rendements : méthanolique absolu et méthanolique 75%.
- ❖ Les activités antibactériennes différents des extraits ont été similaires avec tous les isolats et différentes espèces allant de bonne activité ; très bonne à excellentes activité.
- ❖ Le temps de macération et la concentration de solvants 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.
- ❖ Les extraits alcooliques et acetoniques de notre plante genre *Laurus* peuvent être des sources prometteuses des substances bioactives inhibitrices des bactéries de genre *Staphylococcus* avec ces différents profils antibiorésistances.

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
bibliographique*

A

Adebayo, O., Dang, T., Belanger, A. & Khanizadeh, S. (2012). Anti-fungal studies of selected essential oils and a commercial formulation against *Botrytis Cinerea*. *Journal of Food Research*. 2 (1) :217-226.

AidiWannes, W., Mhamdi, B., Sriti, J., Ben Jmnia, M., Ouchikh, O., Hamdaoni, G. et al. (2010). Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from Myrtle (*Myrtus communis* var. *italica*) Leaf, Stem and Flower. *Food and Chemical Toxicology*. 48 (5): 1362-137.

Akhlaghi, H. (2008). The essential oils from flowers, stems and leaves of *Ferulago angulate* from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*. 44 (3) : 396-397.

Akhlaghi, H. (2008). The essential oils from flowers, stems and leaves of *Ferulago angulate* from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*. 44 (3) : 396-397.

Ameen, M. (2014). In the Literature Orally Administered Trimethoprim-Sulfamethoxazole for Deep Staphylococcal Infections

Antosz, K., Battle, S., Chang, J., Scheetz, M. H., Al-Hasan, M., & Bookstaver, P. B. (2023). Cefazolin in the treatment of central nervous system infections: A narrative review and recommendation. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 43(1), 85-95

Atefeibu, E. S. I. (2002). Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne de *Acacia nilotica* var *adansonii* (Doctoral dissertation, Thèse de pharmacie Université de Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal, 37p).

Adou DA, Mida Kabran GR, Olivier N'guessan AH, Claude Kablan AL, Mamyrbekova-Békro J A et al ;(2019). Analyse phytochimique d'un extrait Coumarinique de feuilles de *Zanthoxylum gillettii* de Côte d'Ivoire. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, vol (47) P : 26 – 31.

B

Baser, K.H.C. & Buchbauer, G. (2010). Handbook of Essential Oils : science, technology And applications. Taylor and Francis Group, LLC, USA. 994pages.

Bes, M., & Brun, Y. (2002). *Staphylococcus*: actualités taxonomiques et identification. *Revue Française des Laboratoires*, 2002(343), 23-30.

Bouguerra, N (2019). Efficacité comparée des extraits de deux plantes, *Thymus Vulgaris* et *Origanum vulgare* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*: composition chimique, toxicité, biochimie et biomarqueurs. (Thèse de doctorat. Université de Chikh el Arbi Tebessitbessa). 134pages.

Boukhatem MN, Ferhat A, Kameli A; (2019). Méthodes D'extraction Et De Distillation

Des Huiles Essentielles : Revue De Littérature. Revue Agrobiologia ,9 (2): P1653-16.

Brackbill, M. L., & Brophy, G. M. (2001). Adjunctive rifampin therapy for central nervous system staphylococcal infections. *Annals of Pharmacotherapy*, 35(6), 765-769

Braga, P.C., Dal Sasso, M., Culici, M., GaSastri, L., Marceca, M.X. & Guffanti, E.E. (2006). Antioxidant potential of Thymol determined by chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems. *Pharmacology*.76 (2) : 61- 68.

Bruneton, J. (2009). Menthe in : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc. 4^{ème} édition. Paris. 631-638.

Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food and Microbiology*.94: 223-253.

Butterfield, D. & Lauderback, C. (2002). Lipid peroxidation and protein oxidation in alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid Beta-peptide associated free radical oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*. 32 (11) : 1050-1060.

BENEMARA, W., & RAIS, H. (2018). *Extraction, caractérisation et étude microbiologique de l'huile essentielle de laurier noble (Laurusnobilis L)* (Doctoral dissertation).

Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed Librairie moderne Rouiba, 46.

Benbrinis, S. (2018). Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits santolinachamaecyparissus (Doctoral dissertation).

BENEMARA, W., & RAIS, H. (2018). *Extraction, caractérisation et étude microbiologique de l'huile essentielle de laurier noble (Laurus nobilis L)* (Doctoral dissertation).

Borges Cv , Minatel IO, Gomez-Gomes HA, Pereira Lima GP ;(2017). Medicinal Plants :Influence of Envirommentale factors on the content of secondary Metabolites. .Medicinale plants and Envirommental challenges ; p259-277.

Cetin, B. S., Şahin, A., Kürkçü, C. A., Küçük, F., Sağıroğlu, P., & Akyıldız, B. N. (2022). Bacteriological Profile and Antimicrobial Resistance Pattern Among Healthcare-Associated Infections in a Pediatric Intensive Care Unit: Bacteriological Profile and Antimicrobial Resistance in PICU. *The Journal of Pediatric Academy*, 3(2), 78-84.

Chen, C. R., Malik, M., Snyder, M., & Drlica, K. (1996). DNA gyrase and topoisomerase IV on the bacterial chromosome: quinolone-induced DNA cleavage. *Journal of molecular biology*, 258(4), 627-637.

Clarke, S. (2008). Chemistry of essential oil. 1st edition. Elsevier. British. 302pages.

Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*.50 (1) : 27- 34.

Constantin, E. (1996). Spectrométrie de masse. Lavoisier Tec & Doc, Paris. 1-14.

Cosgrove, SE, Sakoulas, G., Perencevich, EN, Schwaber, MJ, Karchmer, AW et Carmeli, Y. (2003). Comparaison de la mortalité associée à la bactériémie à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et sensible à la méthicilline : une méta-analyse. *Maladies infectieusescliniques* , 36 (1), 53-59.

Chessa, D., Ganau, G., & Mazzarello, V. (2015). An overview of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* with a focus on developing countries. *The journal of infection in developing countries*, 9(06), 547-550

D

Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, NA et Kumar, S. (2017). Effet des méthodes d'extraction sur le rendement, les constituants phytochimiques et l'activité antioxydante de *Withaniasomnifera*. *Journal arabe de chimie* , 10 , S1193-S1199.

Dicko, O. A. (2013). Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à méticilline au CHU du Point G de 2007 à 2009.

Domart, Y. (2002, May). Principes thérapeutiques des infections à staphylocoques Place et limites des molécules classiques. In *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation* (Vol. 21, No. 5, pp. 392-398). Elsevier Masson.

Dorman, H.J.D. & Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of AppliedMicrobiology*. 88(2) : 308-316.

Duletic-Lausevic, S., Oalde, M., & Alimpic-Aradski, A. (2019). In vitro evaluation of antioxidant, antineurodegenerative and antidiabetic activities of *Ocimum basilicum* L., *Laurus nobilis* L. leaves and *Citrus reticulata* Blanco peel extracts. *Lekovite sirovine* , (39), 60-68.

Daum, R. S., Gupta, S., Sabbagh, R., & Milewski, W. M. (1992). Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates with decreased susceptibility to vancomycin and teicoplanin : isolation and purification of a constitutively produced protein associated with decreased susceptibility. *Journal of Infectious Diseases*, 166(5), 1066-1072.

E

Edris, A.E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents. *Phytotherapie Research*.21 (4) : 308-323.

El-Badawy, O. H., Abdel-Rahim, M. H., Zahran, A. M., & Elsherbiny, N. M. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of macrolide, lincosamide and streptogramin

Elshafie, H.S. & Camele, I. (2016). Investigating the effects of plant essential oils on post-harvest fruit decay, in Fungal pathogenicity. INTECH, Chapter 5. 16 pages. Rijeka, Croatia.

En ligne Bojadziewski, P. (1992). Les services de santé à Bitola à travers les siècles. *Bitola : Société des sciences et des arts*, 1992, 15-27.

En ligne Woodford, N. (2005). Contre-attaque biologique : mécanismes de résistance aux antibiotiques des cocci à Gram positif. *Microbiologie clinique et infection*, 11, 2-21.

El Kour, D. P. (2003). Infection à Staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. EMC, maladies infectieuses, (8-007-A-10).

F

Fagbemi KO, Aina DA, Olajuyigbe OO;(2021). Soxhlet Extraction versus Hydrodistillation Using the Clevenger Apparatus; A Comparative Study on the Extraction of a Volatile Compound from Tamarindus indica Seeds. *The Scientific World Journal*.

Fong, I. W. (1983). Staphylococcal central nervous system infections treated with cloxacillin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 12(6), 607-612

Ferhat Z. *, Houacine S. et Yessad M. (2018). Huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill : Composition chimique et activités antimicrobienne et antioxydante 19-30

G

Geiger, J.L. (2005). The essential oil of Ginger, *Zingiber officinale*, and Anaesthesia. *International Journal of Aromatherapy*. 15 (1) : 7-14.

Glisic, S.B., Misic, D.R., Stamenic, M.D., Zizovic, I.T., Asanin, R.M. & Skala D.U. (2007b). Supercritical carbon dioxide extraction of carrot fruit essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. *Food and Chemistry*. 105 (1): 346-352.

H

Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. (2008). Extraction technologies for medicinal and aromatic Plants, no. 66. *Italy: United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology. Trieste*, 21-25.

Hartati, I., Kurniasari, L. et Anas, Y. (2015). Modèle mathématique de l'extraction assistée par micro-ondes hydrotrope de l'agent antipaludéen d'*Andrographis paniculata*. *Procedia Chemistry*, 14, 186-192.

Hernandez Ochoa LR ; (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant /actif » D'origine végétale .Thèse de doctorat .institut national polytechnique de TOULOUSE.

Howes, M.J.R., Simmonds, M.S.J. & Kite, G.C. (2004). Evaluation of the quality of sandalwood essential oils by gas, chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1028 (2) : 307-312.

Hernandez Ochoa, L. R. (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat en Science des Procédés (option Sciences des Agroressources), Institut National Polytechnique, Toulouse, France.

Hubert, R. (1992). Epices et aromates. Edition Tec & Doc, Lavoisier, France.

J

Jevons, député (1961). Staphylocoques résistants à « Celbenin ». *Revue médicale britannique*, 1 (5219), 124 .

Jham G.N., Dhingra O.D., Jardim C.M. & Valente V.M.M. (2005). Identification of the major fungitoxic component of Cinnamon bark oil. *Fitopatologia Brasileira*. 30 (4): 404-408.

Jiofack, T., Ayissi, I., Fokunang, C., Guedje, N., & Kemeuze, V. (2009). Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong valley forest in Cameroon. *African Journal of Pharmacy and pharmacology*, 3(4), 144-150.

Jiofack, T., Fokunang, C., Guedje, N., Kemeuze, V., Fongnzossie, E., Nkongmeneck, B. A., ... & Tsabang, N. (2010). Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(3), 60-79.

Johansen, C., Verheul, A., Gram, L., Gill, T. & Abee, T. (1997). Protamine-induced permeabilization of cell envelopes of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 63 (3): 1155-1159.

Jain C, Khatana S, Vijayvergia R ;(2019). Bioactivity of secondary metabolites of Various plants : A review .International journal of pharmaceutical sciences and reaserch, Vol. 10(2) :P 494-504.

G

Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.

Georganas A, Giamouri E, Pappas AC, Papadomichelakis G, Galliou F et Al ;(2020). Composés bioactifs dans les déchets alimentaires en : un examen de la Transformation des déchets alimentaires en aliments pour animaux. *Aliments*, (9) :p291

K

Kaatz, G. W., Seo, S.M., Dorman, N. J., & Lerner, S. A. (1990). Emergence of teicoplanin resistance during therapy of Staphylococcus aureus endocarditis. *Journal of Infectious Diseases*, 162(1), 103-108.

Kalemba, D. & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10 : 813-829.

Kelly, K. (2009). The history of medicine. New York : Facts On File.

Kernodle, D. S. (2000). Gram-positive pathogens. Fischetti, VA, 609-620. Gregory, P. D., Lewis, R. A., Curnock, S. P., & Dyke, K. G. H. (1997). Studies of the repressor (BlaI) of β -lactamase synthesis in Staphylococcus aureus. *Molecular microbiology*, 24(5), 1025-1037.

Kloos, W. E., & Schleifekr, H. (1986). Genus IV. Staphylococcus Rosenbach 1884, 1 gAL, (Nom. Cons. Opin. 17 Jud. Comm. 1958. 153). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2, 101.

Kopp, BJ, Nix, DE et Armstrong, EP (2004). Analyse clinique et économique des infections à Staphylococcus aureus sensibles et résistants à la méthicilline. *Annales de pharmacothérapie*, 38 (9), 1377-1382.

Kloos, W. E., & Musselwhite, M. S. (1975). Distribution and persistence of Staphylococcus and Micrococcus species and other aerobic bacteria on human skin. *Applied microbiology*, 30(3), 381-395.

Kaurinovic B, Vastag D ;(2019). Flavonoids and phenolic Aids as Potential Natural Antioxidants ;1-20.

kiuru P, D'Auria MV, Muller DC, Tammela P, Vuorela H, Yli-Kauhala J ;(2014). Exploring marine Resources for bioactive compounds . *Planta medica* .volum 80(14) :p1234-1246.

L

Lakhder, L (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur Aggregatibacter Actinomycètes. (Thèse de doctorat. Université de RABATmaroc).164pages

Latham, RH, Running, K., & Stamm, WE (1983). Infections des voies urinaires chez les jeunes femmes adultes causées par Staphylococcus saprophyticus. *Jama*, 250 (22), 3063-3066.

Leighton, PM, & Little, JA (1986). Identification de staphylocoques à coagulase négative isolés d'infections urinaires. *Journal américain de pathologie clinique*, 85 (1), 92-95.

Lin, Y. C., & Peterson, M. L. (2010). New insights into the prevention of staphylococcal infections and toxic shock syndrome. *Expert review of clinical pharmacology*, 3(6), 753-767.

LODE, H., Schaberg, T., Raffenberg, M., & Mauch, H. (1995). Lower respiratory tract infections in the intensive care unit: consequences of antibiotic resistance for choice of

antibiotic. Microbialdrugresistance, 1(2), 163-167.

Longevialle, P. & McLafferty, F.W. (1981).Principes de la spectrométrie de masse des substances organiques. Masson, Paris. 208 pages.

Lowy, F. D. (1998). Staphylococcus aureus infections. New England journal of medicine, 339(8), 520-532.

Lowy, FD (2003). Antibiorésistance : l'exemple de Staphylococcus aureus. *Le Journal d'investigation clinique* , 111 (9), 1265-1273.

Lelario F, Scrano L, Franchi SDS, Bonomo MG, Salzano G et al ; (2018). Identification and antimicrobial activity of most representative secondary metabolites From different plant species. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 5(1) : 1-12.

Liu Q, Luo L, Zheng L ; (2018). Lignins : Biosynthesis and Biological Functions in Plants. International Journal of Molecular Sciences ; vol 19 (2) :P 335.

Lucchesi, M. E. (2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, France.

M

Ma, H., Cheng, J., Peng, L., Gao, Y., Zhang, G., & Luo, Z. (2020). Adjunctive rifampin for the treatment of Staphylococcus aureus bacteremia with deep infections: A meta-analysis. PLoS One, 15(3), e0230383

Marino M., Bersani C. & Comi G. (2001). Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from lamiaceae and compositae. International Journal of Food Microbiology. 67 (3) : 185-187.

Marriott, P., Shellie, R. & Cornwell, C. (2001). Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. Journal of Chromatography A. 936: 1- 22.

Michel JB, Shen YK, Aiden AP, Veres A, Gray MK et al ;(2011). Quantative Analysis of cultur using millions of digitized books ;331(6014) :176-182.

Marriott, P., Shellie, R., Fergeus, J., Ong, R. & Morrison, P. (2000). High resolution essential oil analysis by using comprehensive gas chromatographic methodology. Flavour and Fragrance Journal. 15 : 225-239.

Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrou, A., Najjaa, H. & Neffati, M. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia herba-alba essential oil cultivated in Tunisian arid zone. Comptes Rendus Chimie. 13 (3): 380-386.

Mojab F. & Nickavar B. (2003). Composition of the essential oil of the root of Heracleumpersicum from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2(4): 245-247.

N

Nagarkoti, D., Prajapati, K., Sharma, A. N., Gyawali, A., & Manandhar, S. (2019). Distribution of macrolide-lincosamide-streptogramin b antibiotics resistance genes in clinical isolates of staphylococci.

Noble, W. C., Virani, Z., & Cree, R. G. (1992). Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS microbiology letters*, 93(2), 195-198.

O

Otto, M. (2010). Novel targeted immunotherapy approaches for staphylococcal infection. *Expert opinion on biological therapy*, 10(7), 1049-1059.

Özcan, M. & Chalchat, J.C. (2004). Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*.30(3/4) : 68-73.

Okombe Embeya V, Nzuzi Mavungu G ;(2019). Etude de l'activité antibactérienne (in vitro) des extraits aqueux et Méthanoliques de l'ail (*Allium sativum* L.). *Journal of Applied Biosciences* ;141: 14419 – 14425 ISSN 1997-5902

P

Pascal DEL GIUDICE (2020). Skin Infection Caused by *Staphylococcus aureus* 209-215.

Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*,6(11),1.

PONCE A. G., FRITZ R., DEL VALLE C. & ROURA S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oil on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologic*, 36, 679-684. +

R

Rahmalia, W., Fabre, JF, & Mouloungui, Z. (2015). Effets du rapport cyclohexane/acétone sur le rendement d'extraction de la bixine par la méthode d'extraction accélérée par solvant. *Procedia Chemistry* , 14 , 455-464.

Rayner, C., & Munckhof, W. J. (2005). Antibiotics currently used in the treatment of infections caused by *Staphylococcus aureus*. *Internal medicine journal*, 35, S3-16.

resistance among nosocomial staphylococci isolated from intensive care units. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 28(1), 23-29.

Rivra, D., & Obton, C. (1995). L'ethnopharmacologie des îles de Madée et de Porto Santo, une revue. *Tourilond'ethnopharmacologie* , 46 (2), 73-93.

Ryder, J. H., Tong, S. Y., Gallagher, J. C., McDonald, E. G., Thevarajan, I., Lee, T. C., & Cortés-Penfield, N. W. (2022, November). Deconstructing the dogma: systematic literature review and meta-analysis of adjunctive gentamicin and rifampin in staphylococcal prosthetic valve endocarditis. In *Open forum infectious diseases* (Vol. 9, No. 11, p. ofac583). US: Oxford University Press.

Raz, R., Colodner, R., & Kunin, C. M. (2005). Who are you—*Staphylococcus*

saprophyticus?. *Clinical Infectious Diseases*, 40(6), 896-898.

Russo M, Moccia S, Spangnolo C, Tedesco I, Russo GL ;(2020).Roles of flavonoids Against coronavirus infection. *Chemico-biological interactions* ; 328 :109211

S

Saad, H.E.A., El-Sharkawy, S.H. & Halim, A.F. (1995). Composition of the essential oils of the leaves and stems of *Torilis arvensis*. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*. (70) : 85-87

Salzer, U.J. (1977). The analysis of essential oils and extracts (Oleo-resins) from seasonings critical. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*. 9 :345-373.

Shane, A. L., Sánchez, P. J., & Stoll, B. J. (2017). Neonatal sepsis. *The Lancet*, 390(10104), 1770-1780.

STEVEN P

Shrestha, TL, & Darrell, JH (1979). Infection urinaire à staphylocoques à coagulase négative dans un hôpital universitaire. *Tourillon de pathologie clin* **dkwang-HyunBaek (2022).** Combination strategies of Different Antimicrobials: An Efficient and Alternative Tool for pathogène Inactivation.

Spellberg, B., & Daum, R. (2012, March). Development of a vaccine against *Staphylococcus aureus*. In *Seminars in immunopathology* (Vol. 34, pp. 335-348). Springer-Verlag.

Stojanoski, N. (1999). Development of health culture in Veles and its region from the past to the end of the 20th century. *Veles : Society of science and art*, 13, 34.

Swolana, D., Kępa, M., Kabala-Dzik, A., Dzik, R., & Wojtyczka, R. D. (2021). Sensitivity of staphylococcal biofilm to selected compounds of plant origin. *Antibiotics*, 10(5),607.

Saim, N., & Meloan, CE (1986). Composés de feuilles de laurier (*Laurus nobilis* L.) comme répulsifs pour *Tribolium castaneum* (Herbst) lorsqu'ils sont ajoutés à la farine de blé. *Journal of Stored Products Research* , 22 (3), 141-144.

STEVEN P.S, (2001). *Angiosperm Phylogeny Website* .

T

Tigrine, C. (2018). Effets anticancéreux et chimioprotecteur de l'extrait polyphénolique, riche en flavonoïdes, des feuilles de cléome arabica (Doctoral dissertation).

Tankovic, J., Aubry-Damon, H., & Leclercq, R. (1997). Résistance aux antibiotiques autres que les bêta-lactamines chez *Staphylococcus aureus*. *Médecine et maladies infectieuses*, 27, 207-216.

Triaux Z., (2019). de méthode d'extraction et d'analyse de molécules terpénique de molécules terpénique à activité anti-inflammatoire. Thèse de doctorat : chimie analytique Université de Strasbourg, 280p.

Tsuchiya, H., Sato M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M. et al (1996).

V

veGenotipik, S. B. D. F. (2020). Phenotypic and Molecular Detection of Macrolide LincosamideStreptogramin B Resistance in Clinical Isolates of Staphylococci. *FLORA*, 25(2), 190-196.

Vedel, G., Leruez, M., Lemann, F., Hraoui, E., &Ratovohery, D. (1990). Prevalence of Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci with decreased sensitivity to glycopeptides as assessed by determination of MICs. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 9, 820-822.

W

Werker, E. (1993). "Function of essential oil secreting glandular hairs in aromatic plants of Lamiaceae - a review. *Flavour and Fragrance Journal*. 8(5) : 249-255.

Wertheim, H. F., Melles, D. C., Vos, M. C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H. A., &Nouwen, J. L. (2005). The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. *The Lancet infectious diseases*, 5(12), 751-762.

Wilson, DN (2014). Antibiotiques ciblant les ribosomes et mécanismes de résistance bactérienne. *Nature Reviews Microbiology* , 12 (1), 35-48.

Y

YAKHLEF G, (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de Thymus vulgaris L et Laurus nobilis L, p78

Z

Zhang, H. Z., Hackbarth, C. J., Chansky, K. M., & Chambers, H. F. (2001). A proteolytictransmembrane signaling pathway and resistance to β -lactams in staphylococci. *Science*, 291(5510), 1962-1965.

Annexes

Composition des milieux de culture Milieu de Chapman

La formule théorique de ce milieu de culture en g/L d'eau purifiée est

Extrait de viande (bovin ou porcin).....	1g
Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin)	10g
Chlorure de sodium	75g
Mannitol	10g
Agar.....	15g
Rouge de phénol.....	0,025g

pH=7,6

Préparation : 111g par litre d'eau distillée. stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

Gélose nutritive pour la conservation

Peptone	10.0g
Extrait de viande.....	5g
Chlorure de sodium	5g
Agar.....	10.0g

pH=7.3

Préparation : prêt à l'emploi en petits tubes fins.

Gélose Mueller-Hinton Composition :

Infusion de viande de bœuf	300ml	Peptone de
caséine	17.5g	Amidon de
mais	1.5g	Annexes
Agar.....	10.0g	

pH= 7.4

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 116°C, 15min.



Figure 37. Protocoles de préparation des milieux de culture (photos personnel,2023)

