

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERIE DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE



**MEMOIRE
DE FIN D'ETUDES**

*EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES
OPTION MICROBIOLOGIE APPLIQUEE*

THEME

**Etude de la résistance bactérienne dans les infections respiratoires
et évaluation de l'activité antimicrobienne des polyphénols de
*Pulicaria crispa***

Réalisé par :

M^{lle} MAZOUNI Houria

M^{lle} NAIT RAMDANE Taous

Soutenu le : 18 septembre 2019

Devant le jury composé de :

M^r TITOUCHE Y.

MCB

UMMTO

PRESIDENT

M^{me} AFIF CHAOUCHE T.

MCB

UMMTO

PROMOTRICE

M^r BOUACEM K.

MCB

UMMTO

EXAMINATEUR

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Nous commençons par remercier Dieu le tout Puissant qui nous a donné la capacité d'achever ce modeste travail.

Notre profonde gratitude est exprimée pour notre promotrice, Docteur AFIF CHAOUCHE T., Maitre de conférences classe B, à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, pour l'honneur qu'elle nous a fait de nous encadrer, pour son soutien, son attention, son encouragement et sa gentillesse.

Nous tenons à remercier M^r TITOUCHÉ Y., Maitre de conférences classe B, à l'université mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions également M^r BOUACHEM K., Maitre de conférences classe B, à l'université mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

Nous remercions aussi les ingénieurs des laboratoires de la faculté de sciences biologiques et agronomiques, qui ne cessaient jamais de nous diriger et conseiller.

Nos remerciements s'adressent aussi à l'équipe du laboratoire de microbiologie CHU de Tizi-Ouzou, pour nous avoir accordé l'avis favorable pour effectuer notre stage au sein de cet établissement hospitalier.

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à :

Mes très chers parents, pour leur soutien et encouragements.

Mes chères sœurs

Mes chers frères

Mes amis (es) en particulier Merzouk, pour son amour et son aide.

Taous

Dédicaces

A la mémoire de ma chère mère qui est toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu le bon miséricordieux, vous accueille de son éternel paradis

A mon cher père, qui sera fier de ma réussite

A ma sœur Dalila

A mes frères

A mes amis(es) en particulier Aziz, pour son aide et son amour.

Houria

Liste des abréviations

abs : Absorbance

ATB : Antibiotique

BCP : Pourpre de bromochrésol

BGN : Bacille à Gram négatif

CMI : Concentration minimale inhibitrice

EAG/g MS : Equivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche

GN : Gélose nutritive

GSC : Gélose au sang cuit

GSF : Gélose au sang frais

MH : Muller Hinton

MS : Matière sèche.

PPT : Polyphénols totaux

R(%) : Rendement

SM : Solution mère

TSI : Triple sugar iron

UFC : Unité formant colonie

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des principaux germes responsables d'infection respiratoires.....	6
Tableau 2 : Action des antibiotiques sur la synthèse de la paroi bactérienne.	8
Tableau 3 : Action des antibiotiques sur la membrane plasmique.	9
Tableau 4 : Action des antibiotiques sur la synthèse protéique.	9
Tableau 5 : Action des antibiotiques sur la synthèse des acides nucléiques.	10
Tableau 6 : Milieux de cultures utilisés.....	24
Tableau 7 : Produits chimiques et leur utilisation.	24
Tableau 8: Poids de l'extrait et le rendement correspondant à l'extraction des composés phénoliques de la plante <i>P. crista</i>	35
Tableau 9 : Tableau récapitulatif des résultats.	41
Tableau 10: Résultats de l'antibiogramme d' <i>E. cloacae</i> et <i>P. mirabilis</i>	46
Tableau 11: Concentrations des dilutions de l'échantillon.	46
Tableau 12: Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait phénolique des souches étudiées.....	49

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie des voies respiratoires.	3
Figure 2 : Mécanismes d'action des antibiotiques	11
Figure 3 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques.	14
Figure 4 : Biosynthèse des composés phénoliques.	15
Figure 5 : Structure chimique de l'acide benzoïque	16
Figure 6 : Structure chimique de l'acide cinnamique	16
Figure 7 : Structure générale des flavonoïdes	16
Figure 8 : Structure chimique des lignines	17
Figure 9 : Structure chimique des coumarines.	18
Figure 10: Structure chimique d'un stilbène.	18
Figure 11: Parties aériennes de « <i>Pulicaria crispa</i> ».	23
Figure 12 : Evaporation du méthanol de l'extrait par le rotavapeur.	26
Figure 15 : Schéma de la galerie API 20E	31
Figure 16 : Schéma explicatif de l'antibiogramme standard.	32
Figure 17 : Photo de vitek.	32
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	36
Figure 17: Répartition des germes selon le type de prélèvements.	38
Figure 18: Répartition des souches bactériennes identifiées.	39
Figure 19 : Répartition des germes selon la coloration de Gram.	39
Figure 20 : Répartition des patients selon le sexe.	40
Figure 21 : Répartition des prélèvements selon les services	41
Figure 22: Taux de résistance et sensibilité des souches <i>K. pneumoniae</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.	42
Figure 23: Taux de résistance et sensibilité des souches d' <i>A. baumannii</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.	43
Figure 24 : Taux de résistance et sensibilité de <i>P.aeruginosa</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.	44
Figure 25 : Taux de résistance et sensibilité des souches <i>S. aureus</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.	45
Figure 26 : Répartition des germes selon les diamètres de zones d'inhibition de l'extrait.	47

Figure 27 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait phénolique de la plante « <i>P. crispa</i> ».	51
---	----

Table de matière

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

I- synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les maladies infectieuses et respiratoires

1. Rappels sur les maladies infectieuses2

1.1. Agents responsables des maladies infectieuses2

2. Infections des voies respiratoires2

2.1. Classification des infections respiratoires3

2.1.1. Infections respiratoires hautes.....3

2.1.2. Infections respiratoires basses4

2.3. Flore bactérienne des voies respiratoires5

2.4. Caractéristiques des principaux germes responsables d'infections respiratoires5

Chapitre 2 : Les antibiotiques

1. Définition.....8

2. Classification8

Table de matière

2.1. Origine	8
2.2. Nature chimique et mécanismes d'action	8
2.3. Spectre d'activité	11
2.4. Mode d'action	11
3. Résistance aux antibiotiques	12
3.1. Définition	12
3.2. Résistance naturelle	12
3.3. Résistance acquise	12
Chapitre 3. Généralités sur les polyphénols et <i>Pulicaria crispera</i>	
1. Définition	15
2. Biosynthèse des polyphénols	15
3. Classification	15
3.1. Polyphénols monomériques	15
3.2. Polyphénols polymériques	16
4. Rôles des polyphénols	18
5. Méthodes d'extraction	19
6. Généralités sur <i>Pulicaria crispera</i>	
1. La famille des Asteraceae	20
2. Présentation de la plante	20
3. Utilisation et propriétés thérapeutiques	21

Table de matière

II- Matériel et méthodes

1. Matériel 23

1.1. Matériel végétal	23
1.2. Souches microbiennes utilisées.....	23
1.3. Tests biochimiques	23
1.4. Milieux de cultures	24
1.5. Produits chimiques	24
1.6. Antibiotiques	25

2. Méthodes25

2.1. Récolte du matériel végétal	25
2.2. Préparation de la poudre.....	25
2.3. Extraction des polyphénols de <i>P. crispa</i>	25
2.4. Rendement.....	26
2.5. Dosage des composés phénoliques	27
2.6. Les souches bactériennes.....	28
2.6.1. Prélèvements	28
2.6.2. Isolement	28
2.6.3. Identification	28
2.7. AntibioGramme	31
2.7.1. AntibioGramme classique en milieu gélosé	31

Table de matière

2.7.2. Antibiotogramme au milieu liquide automatisé (Vitek)	32
2.8. Evaluation de l'activité antibactérienne	33
2.9. Détermination de la concentration minimale inhibitrice	34

III- Résultats et discussions

1. Caractéristiques de la plante	35
2. Rendement	35
3. Dosage des composés phénoliques totaux.....	36
4. Isolement et identification	37
4.1. Répartition des souches étudiées	38
4.2. Répartition des souches selon la coloration de Gram	39
5. Taux des prélèvements analysés selon le sexe	40
6. Répartition des prélèvements selon le service	41
7. Evaluation de l'antibiorésistance	42
8. Evaluation de l'activité antibactérienne	46
9. Détermination de CMI.....	48
Conclusion	52
Références bibliographiques	54

Annexes

Résumé

Nous assistons durant ces trente dernières années à une croissance de la fréquence d'apparition des bactéries résistantes aux antibiotiques. Face à la récurrence des infections difficiles à traiter dues à ces bactéries pathogènes multi-résistantes, le renforcement de l'arsenal des antimicrobiens fait partie des préoccupations majeures de santé publique.

La première partie de cette présente étude, consiste à isoler et identifier 19 souches bactériennes à l'origine des infections respiratoires dont *P.aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *P. mirabilis* et *S. aureus*. Le résultat de l'antibiogramme montre que ces souches sont multirésistantes vis-à-vis des antibiotiques testés.

Dans la seconde partie, *Pulicaria crispa*, une plante médicinale saharienne, a suscité notre attention pour la recherche de nouvelles substances antimicrobiennes. À partir de l'extrait phénolique de la partie aérienne de cette plante, des tests d'activité antimicrobienne ont été réalisés, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés. Leurs valeurs obtenues varient de 9 à 16 mm à l'exception de *E. cloacae* 2 ($\varnothing=7\text{mm}$), qui se révèle résistante vis-à-vis de l'extrait. Pour ce qui est de la CMI, ses valeurs allant de 8 à 10mm, ce qui indique que la plante étudiée est habile à inhiber les bactéries, cette inhibition varie selon les souches étudiées. Ce qui permet de justifier son utilisation en médecine traditionnelle.

Mots clés : Antibiotiques, multirésistantes, *Pulicaria crispa*, activité antimicrobienne.

Abstract

Over the last 30 years, we have seen a rise in the frequency of appearance of antibiotic-resistant bacteria. Faced with the recurrences of difficult –to-treat infections caused by these multidrug-resistant bacteria, strengthening the arsenal of antimicrobials is a major public health concern.

The first party of this study consists of isolating and identifying 19 bacterial strains responsible for respiratory infections including *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumonia*, *E. cloacae*, *P. mirabilis* and *S. aureus*. The result of antibiogram shows that these strains are multi-resistant against the antibiotics tested.

In the second part, *Pulicaria crispa*, a Saharan medicinal plant, has attracted our attention for the research of new antimicrobial substances, from the phenolic extract of the aerial part of this plant, antimicrobial activity tests were carried out, the diameters of the inhibition zones were measured. Their values obtained vary from 9 to 16 mm with the exception of *E. cloacae*2 ($\varnothing = 7$ mm), which is resistant to the extract. As for the MIC, its values range from 8 to 10mm, which indicates that the plant that the plant studied is able to inhibit the bacteria; this inhibition varies according to the strains studied. This allows to justify its use in traditional medicine.

Key words : Antibiotics, multi-resistant, *Pulicaria crispa*, antimicrobial activity.

Introduction

Dès sa naissance, l'homme est colonisé par une flore bactérienne commensale comptant environ 10^{14} bactéries, qui, lors d'un déséquilibre de l'organisme ou à cause d'une transmission exogène, peuvent se transformer en bactéries pathogènes. Ces dernières sont responsables de plusieurs maladies infectieuses, dont les infections respiratoires, qui sont des affections graves et fréquentes, qui en dépit des progrès de la médecine en général, des moyens de diagnostic et de traitement en particulier demeurent un problème de santé publique.

Pour faire face à ces infections bactériennes, l'homme a recours à des substances appelées « antibiotiques », capables d'empêcher le développement et la progression de ces bactéries pathogènes. Ils ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections. Leur développement a révolutionné le traitement des maladies infectieuses (**Grace Yim, 2011**).

En effet, le développement de la résistance de certains microorganismes pathogènes aux antibiotiques par l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, ainsi que l'apparition des effets secondaires de certains médicaments a conduit à la recherche de nouveaux agents antimicrobiens (**Soussy, 2007 ; al-hajj et al., 2014**).

Le recours aux ressources naturelles en général, et aux plantes médicinales en particulier devient l'une des plus importantes et intéressantes pistes à explorer pour la recherche de nouveaux produits antimicrobiens plus efficaces (**Chebaibi et al., 2011**).

Les plantes médicinales et aromatiques sont à la fois un produit fini destiné à la consommation, et une matière première pour l'obtention de substances actives utilisées en phytothérapie, d'où l'augmentation de l'intérêt mondial de leur utilisation (**Bouzide et al., 2011**). En Afrique, la médecine traditionnelle constitue le support fondamental pour la pratique de la médecine dans les zones rurales. L'usage d'extrait des plantes contenant des constituants bioactifs et devenu une approche très importante dans la médecine préventive (**Keita et al., 2004**). En effet, en 2002, l'OMS a estimé que, pour se soigner, 80% de la population africaine ont toujours recours à la médecine traditionnelle, pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales. Ces espèces végétales d'aussi grande importance pour la santé des populations méritent d'être étudiées scientifiquement pour une meilleure utilisation (**Karou et al., 2005**).

L'étude réalisée dans notre travail est effectuée au niveau du Centre hospitalo-universitaire Tizi-Ouzou (CHU), ainsi qu'aux laboratoires de l'Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou (UMMTO). Elle consiste à isoler et identifier une collection de bactéries à partir des prélèvements des infections respiratoires, au niveau de différents services. Une étude antibactérienne est également réalisée afin de déterminer l'efficacité des produits polyphénoliques de la partie aérienne de « *Pulicaria crispa* ».

1. Rappels sur les maladies infectieuses

Les maladies infectieuses sont les maladies les plus fréquentes, plus de tiers des malades hospitalisés reçoivent au moins un antibiotique. On distingue les maladies bactériennes et les maladies virales. Les infections peuvent être également d'origine fongique ou parasitaire (**Labayle, 2001**).

1.1. Agents responsables des maladies infectieuses

-) **Bactéries** : sont des microorganismes procaryotes, unicellulaires, leur génome est constitué d'ADN. Les bactéries sont capables de synthétiser leurs propres macromolécules et constituants cellulaires à partir de nutriments (**Guirad, 2012**).
-) **Virus** : un virus est une entité biologique microscopique, infectieuse, qui possède un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN). Il ne peut se multiplier qu'en pénétrant dans une cellule hôte, dont il utilise leur constituants (**Raoult, 2008**).
-) **Champignons** : tout comme les bactéries, les champignons sont ubiquistes. On distingue les levures et moisissures. (**Borgues, 2014**).
 - **Levures** : sont microscopiques, unicellulaires et eucaryotes. Se reproduisent majoritairement par multiplication asexuée (bourgeonnement ou scission) et pour certains par reproduction sexuée. Elles sont capables de vivre en aérobiose ou en anaérobiose (**Blondin, 2005**).
 - **Moisissures** : sont microscopiques, filamenteux, uni ou pluricellulaires et eucaryotes. Leurs multiplication se fait par reproduction asexuée (émission de spores), ou reproduction sexuée.
-) **Parasites** : un parasite est défini comme un être vivant animal ou champignon, qui pendant une partie ou en totalité de son existence vit au dépens d'autres organismes. Un même parasite peut prendre chez l'homme, dans le milieu extérieur, ou chez l'hôte intermédiaire, des formes particulières correspondant à différents stades de leurs développements (**Anofel, 2014**).

2. Infections des voies respiratoires

On appelle infections respiratoires, l'infection d'une partie quelconque de l'appareil respiratoire évoluant pendant une durée relativement courte. Selon que l'infection affecte le tractus respiratoire situé au dessus ou au dessous de l'épiglotte, on distingue deux grands types d'infections respiratoires, hautes et basses (**Taytard, 2006 ; Black, 2012**).

Le haut et le bas de l'appareil respiratoire sont souvent affectés simultanément ou consécutivement.

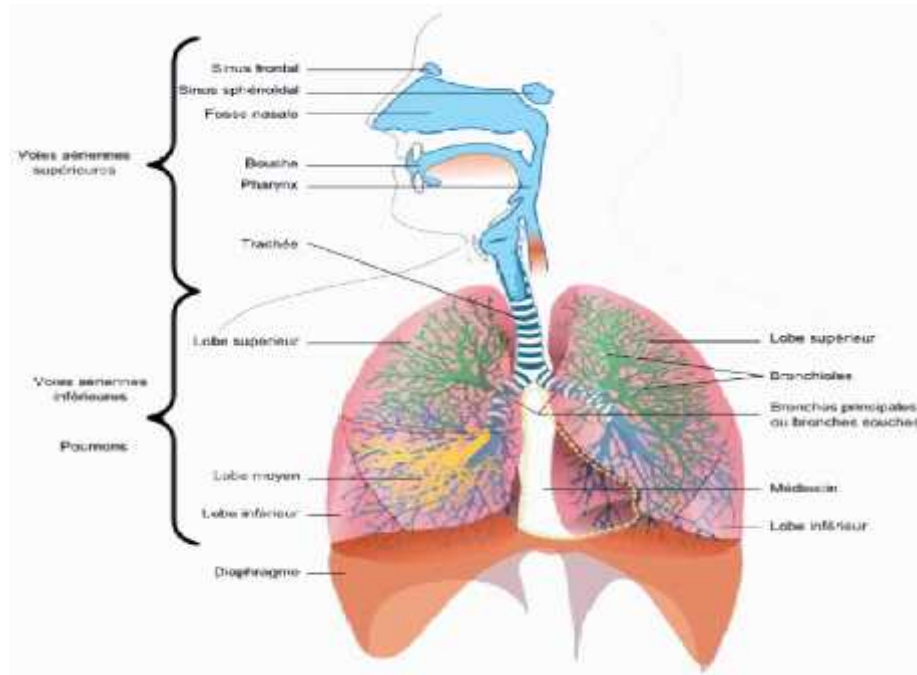


Figure1 : Anatomie des voies respiratoires.

2.1. Classification des infections respiratoires

Il existe une multitude de types d'infections respiratoires qu'elles soient inférieures ou supérieures :

2.1.1. Infections respiratoires hautes

Les infections des voies respiratoires supérieures sont des affections dues à des virus ou bactéries touchant soit le nez, les sinus, le pharynx, le larynx et l'oreille moyenne (**Humair ; Kaiser, 2013**).

2.1.1.1. Rhinopharyngite

Elle se définit comme une atteinte inflammatoire de l'étage supérieur du pharynx avec participation nasale. Elle associe cliniquement rhinorrhée, éternuements, obstruction nasale, fièvre, douleurs pharyngées et toux. Les virus sont les principaux agents pathogènes mais une surinfection bactérienne survient habituellement (**Levallois, 2004 ; Perronne, 2005**).

2.1.1.2. Angine

L'angine est une inflammation d'origine infectieuse des amygdales voire de l'ensemble du pharynx. Elle constitue un syndrome qui associe une fièvre, une gêne douloureuse à la déglutition et des modifications de l'aspect de l'oropharynx. Le premier agent bactérien en cause est le streptocoque β -hémolytique du groupe A (**Perronne, 2005**).

2.1.1.3. Otite

L'otite moyenne est une inflammation de l'oreille moyenne accompagnée habituellement d'un épanchement purulent. Elle se manifeste par les symptômes de douleur (otalgie) et de fièvre. Devant toute otalgie, l'examen des oreilles est impératif, il montre une membrane tympanique rouge et bombée (**Levallois, 2004 ; Pierre et al., 2018**).

2.1.1.4. Sinusite

La sinusite est une infection d'une ou plusieurs cavités sinusiennes par un agent infectieux, viral ou bactérien habituellement concomitante d'une rhinopharyngite (**Yapo et al., 2016**).

Les formes rencontrées de sinusite varient selon l'âge, les adultes présentent des sinusites maxillaires avec parfois atteinte frontale ou sphénoïdale. Chez les nourrissons et les enfants, la sinusite peut se compliquer d'une ethmoïdite, qui associe fièvre, rhinorrhée purulente et œdème de l'angle interne de l'œil (**Anne, 2011**).

2.1.1.5. Laryngite

La laryngite est une inflammation du larynx, le plus souvent d'origine infectieuse. Elle est la principale cause de dyspnée obstructive haute chez le nourrisson et l'enfant (**Plisson et al., 2013**).

2.1.2. Infections respiratoires basses

Les infections respiratoires basses se définissent comme une atteinte du parenchyme pulmonaire, des bronches, les bronchioles et de la trachée artère (**Chouaid, 1999**).

Ces infections sont en nombre de trois :

2.1.2.1. Bronchite

C'est une inflammation très fréquente de courte durée des bronches et /ou des bronchioles. Elle s'accompagne de lésions anatomopathologiques avec une desquamation de l'épithélium et une hyperproduction de mucus. Plus de la moitié des bronchites est d'origine

virale et les origines bactériennes surviennent le plus souvent dans le cadre d'une surinfection (Xavier et al, 2011).

2.1.2.2. Bronchiolite

C'est une inflammation des bronchioles, très contagieuse. Le plus souvent virale, cependant, une surinfection bactérienne est possible, surtout en cas de survenue de fièvre élevée ou persistante au-delà de 4 jours. Cette inflammation s'accompagne d'une sécrétion exagérée du mucus à l'origine d'une obstruction plus ou moins complète des conduits aériens (Munyankindi, 2007).

2.1.2.3. Pneumonie

Les pneumonies sont des infections du parenchyme pulmonaire habituellement localisées à un segment ou à un lobe pulmonaire. Elles réalisent des infections potentiellement sévères, relativement rares par rapport aux infections bronchiques. L'origine de ces infections peut être des microorganismes endogènes, mais aussi exogènes (Brown et Lerner, 1998).

2.3. Flore bactérienne des voies respiratoires

Les voies respiratoires supérieures sont colonisées par une flore commensale diverse, variée, et abondante au niveau du rhinopharynx (10^8 UFC/ml de sécrétion pharyngée). Elles contiennent de nombreux opportunistes majeurs : Staphylocoque doré, Streptocoques (*S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sanguis*) mais aussi *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Neisseria*, *M. catarrhalis*, anaérobies et Corynébactéries.

En revanche les voies respiratoires post-pharyngées ou voies respiratoires inférieures sont normalement stériles. La flore est minime et activement combattue par le mucus, les cils et les macrophages (Michon et Marchandina, 2015).

2.4. Caractéristiques des principaux germes responsables d'infections respiratoires

Le tableau ci-dessous représente les caractéristiques des principaux germes responsables d'infections respiratoires.

Tableau 1 : Caractéristiques des principaux germes responsables d'infection respiratoires.

	Caractères morphologiques	Caractères cultureux	Caractères biochimiques
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci à Gram positif en courtes chaînettes, ou en grappe de raisin, immobile, non sporulé et non capsulé (Avril, 1992 ; Berche, 2003).	Aéro-anaérobie facultatif, cette bactérie produit un pigment jaune orangé. Les colonies sont rondes, lisses, bombées, brillantes et opaques (Avril et Monteil, 2000).	Catalase+, oxydase-, fermente le glucose, mannitol+, indole-. Uréase+, et producteur d'enzyme staphylocoagulase. (Monnier et Denis, 2007).
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Cocci à Gram positif, avec un aspect de diplocoque en flamme de bougie, en courtes chaînettes, non sporulé, non capsulé et immobile (Nauciel, 2000).	Aéro-anaérobie, sensible aux variations de pH et de température. Les colonies sont parfois très muqueuses chez les souches capsulées (Monnier ; Denis, 2007).	Catalase-, oxydase-, nitrate-, gélatine-, et fermente les sucres (Mariko, 2005).
<i>Streptococcus Hémolytiques</i> β	Cocci à Gram+ en chaînettes, non sporulé, non capsulé et immobile (Larry et al., 2017).	Aéro-anaérobie facultative, les colonies sont petites, grisâtres, translucides, entourées d'une zone d'hémolyse complète à contour net (Prescott, et al., 2007 ; Madigan, et al., 2007).	Fermente le sucre, catalase négative, n'est pas sensible à l'optochine (Berche, 2003).

Tableau 1 : Caractéristiques des principaux germes responsables d'infection respiratoires. (suite)

<i>Proteus mirabilis</i>	Bacilles à Gram négatif, polymorphe, non capsulé, non sporulé et très mobile (Scheftel, 2010).	Aéro-anaérobies facultatives. Les colonies sont lisses et de grosse structure homogène (Drame, 2001 ; Bakhoun, 2004).	Oxydase -, catalase +, Indole+, uréase + et H ₂ S positif. Il fermente le glucose avec production de gaz. (Hart et Shears, 1997)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacilles à Gram négatif, non sporulé, immobiles et capsulées (Scheftel, 2010).	Aéro-anaérobies facultatives. Les colonies sont mucoïdes et grandes. (Drame, 2001 ; Bakhoun, 2004).	Fermente le glucose et le lactose en produisant du gaz, sont indole +, et uréase + (Hart et Shears, 1997).
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Bacille non fermentaires, a Gram négatif, immobiles, non sporulés et parfois capsulées (Wendpoulomde et al., 2016).	Aérobie strict. Les colonies sont convexes, luisantes et blanchâtres (Fomba, 2006).	Oxydase-, catalase+, ne fermente pas les sucres et ne réduit pas le nitrate (Zahoun et al., 2010).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille à Gram négatif, non sporulé, non capsulés et mobiles (Floret et al., 2009).	Aérobie stricte et non exigeante. Les colonies sont larges, petites et mucoides. (Roussel-Delvalle, 2001).	Oxydase +, catalase -, nitrate réductase +.

1. Définition

Les antibiotiques sont des agents dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique. Ils agissent à faible dose pour inhiber la croissance des micro-organismes ou pour les détruire. Ils peuvent être produits de manière naturelle par des champignons et des bactéries ou obtenus par synthèse et héli synthèse (**Demoré et al., 2012**).

2. Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon:

2.1. Origine

Les antibiotiques élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique) (**Yala et al., 2001**).

2.2. Nature chimique et mécanismes d'action

Les antibiotiques peuvent être classés en fonction de leurs structures de bases en familles. Ces dernières agissent sur les différents constituants de la bactérie, telle la paroi, la membrane cytoplasmique, la synthèse des protéines ou la synthèse des acides nucléiques (**Mohamadi, 2010**).

Les mécanismes d'action des grandes familles d'antibiotiques sur les différents composants des bactéries sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 2: Action des antibiotiques sur la synthèse de la paroi bactérienne (**Nauciel et Vildé, 2005**).

Famille	Exemple d'antibiotiques	Mode d'action
β –lactamines	Ampicilline Amoxicilline Carbénicilline	Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les protéines liant la pénicilline (PLP).
	Imipénème Méropénème Ertapénème	Les PLP ont une activité transpeptidasique, carboxypeptidasique et transglycolasique.
	Amoxicilline+Acide clavulanique Ticarcilline + Acide clavulanique	L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques

Chapitre II : Les antibiotiques

	Céfazoline Céfoxitine Céftriaxone Aztréonam	responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes rondes ou filamenteuses qui aboutissent à la lyse bactérienne.
Glycopeptides	Vancomycine Teicoplanine	Ils bloquent la polymérisation du peptidoglycane en se fixant sur la partie DAla-D-Ala terminale des peptides impliqués dans la phase de polymérisation du peptidoglycane.
Non classé	Fosfomycine	Elle se fixe sur une enzyme impliquée dans la formation de l'acide N-acétylmuramique qui est l'un des précurseurs du peptidoglycane.

Tableau 3: Action des antibiotiques sur la membrane plasmique.

Famille	Antibiotiques	Mode d'action
Polymixines	Polymixine B Colistine	Elles se fixent sur les phospholipides, et perturbent ainsi les transferts transmembranaires de nutriments et inhibent les phosphorylations oxydatives du métabolisme énergétique (Fauchère et Avril, 2002).

Tableau 4 : Action des antibiotiques sur la synthèse protéique.

Famille	Antibiotiques	Mode d'action
Aminosides	Streptomycine Kanamycine Gentamicine	Ils se fixent sur la Sous unité 30S du ribosome ou ils s'interfèrent avec la synthèse des protéines (Singleton, 2005).
Macrolides- Lincosamides Streptogramines	Spiramycine Lincomycine Pristinamycine	Ils agissent au niveau de la sous unité 50S du ribosome. Ils inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique en formation (Yala et al. ,2001).

Chapitre II : Les antibiotiques

Tableau 4 : Action des antibiotiques sur la synthèse protéique. (suite)

Tétracyclines	Oxytetracycline Doxycycline Glycylcyclines	Ils agissent au niveau de la sous unité 30S du ribosome en inhibant la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, en empêchant la fixation de l'aminocyl-ARN _t (Bryskier, 1999).
Phénicolés	Chloramphénicol Thiamphénicol	Inhibition de la peptidyl-transférase, en se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien (Wareham et Wilson, 2002).
Oxazolidinones	Linézolide	Ils se fixent sur la sous unité ribosomale 50S et empêche sa liaison à la sous unité 30S (Nauciel et Vildé, 2005).

Tableau 5: Action des antibiotiques sur la synthèse des acides nucléiques.

Famille	Antibiotiques	Mode d'action
Quinolones	Acide nalidixique, Acide pipémidique, Acide oxolinique	Ils agissent sur deux enzymes impliquées dans cette synthèse: ADN gyrase (cible principale des BGN), il forme un complexe ADN gyrase-Quinolones qui va bloquer la progression de l'ADN polymérase bactérienne au cours de la réplication.
Et	Fluméquine	
Fluoroquinolones	Péfloxacin Ofloxacin Norfloxacin Ciprofloxacin	ADN topo- isomérase IV, l'interaction entre l'ADN, quinolone et topoisomérase stimule la coupure de l'ADN et inhibe la relégation (Hooper, 2002).
Rifamycines	Rifamycine Rifamycine SV	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARNm par inhibition de l'ARN polymérase (Nauciel et Vildé, 2005).

Tableau 5: Action des antibiotiques sur la synthèse des acides nucléiques. (suite)

Nitrofuranes	Nitrofurantoïne Furazolidone Nifuroxazide	Elles agissent directement sur l'ADN en provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases) (Nauciel et Vildé, 2005).
--------------	---	---

La figure 2 récapitule les mécanismes d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne.

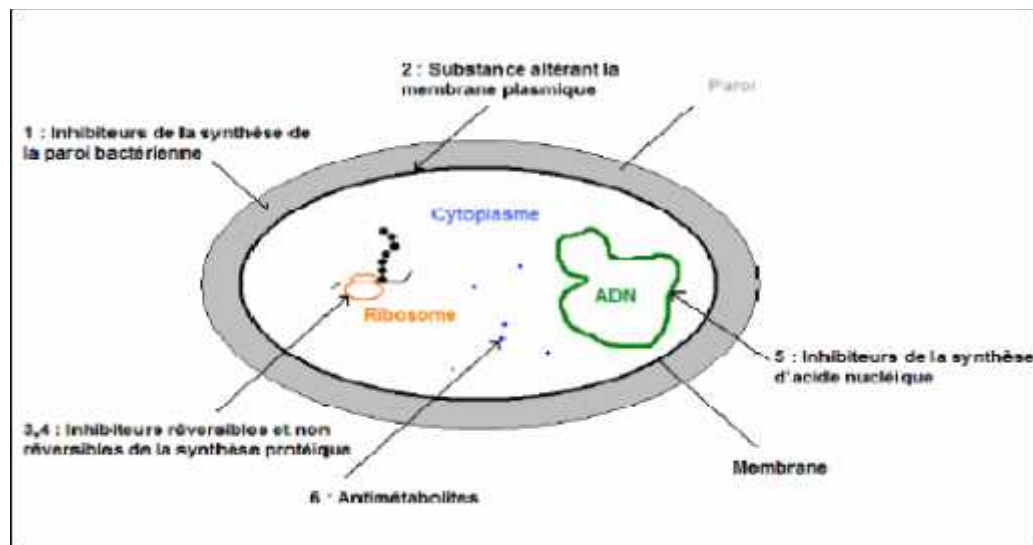


Figure 2 : Mécanismes d'action des antibiotiques (Targant, 2012).

2.3. Spectre d'activité

Liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs :

- **Les antibiotiques à spectre large** : sont efficaces sur un grand nombre de types d'agents pathogènes. Ils sont utilisés lorsque la bactérie n'est pas identifiée et que la pathologie peut être due à différents types d'agents pathogènes.
- **Les antibiotiques à spectre étroit** : sont efficaces sur un nombre limité d'agents infectieux leur permettant de cibler une pathologie en particulier (Demoré, 2012).
- **Les antibiotiques à spectre limité** :

2.4 Mode d'action

La classification des antibiotiques est basée sur leur modalité d'action: antibiotiques bactériostatiques ou bactéricides (Van Bambeke et al., 2013).

D'une façon générale, pour exercer son activité, l'antibiotique va se fixer sur une cible cellulaire bactérienne, spécifique et bloquer la fonction physiologique associée à cette cible **(Andremont, 1993)**.

Selon les conséquences de cette fixation de l'antibiotique sur la cible, on peut distinguer deux types **(Mbengue, 1997)** :

a. Bactériostase

Elle est définie comme une diminution de la croissance bactérienne sans phase de destruction. Lorsqu'elle est maximale, le nombre de bactéries reste égal à l'inoculum **(Oieye, 1996)**.

b. Bactéricidie

Elle est définie comme l'activité d'un antibiotique qui entraîne la mort accélérée des bactéries. Elle est fonction de la concentration de l'antibiotique, du temps d'action, mais aussi du type d'antibiotique **(Oiallo, 1993)**.

3. Résistance aux antibiotiques

3.1. Définition

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), une souche résistante est une souche qui supporte une concentration d'antibiotiques, notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce **(Azerbaijan, 2011)**.

3.2. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque, est une caractéristique propre d'un genre ou d'une espèce bactérienne, portée par le chromosome, elle est stable, et transmise à la descendance **(Copyright Medqual, 2012)**.

3.3. Résistance acquise

La résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques souches d'une espèce donnée. Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Elle est portée par le chromosome, les plasmides, ou des éléments génétiques mobiles, permettant ainsi une transmission verticale à la descendance mais aussi une transmission horizontale, parfois entre espèces différentes **(Lozniewski et al., 2010 ; Copyright Medqual, 2012)**.

3.3.1. Mécanismes génétiques de la résistance

Une bactérie peut acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques :

a. Résistance chromosomique

La résistance chromosomique résulte d'une mutation qui entraîne la perte ou la modification d'une protéine. Elle n'est pas provoquée par la présence de l'antibiotique, ce dernier révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes (Ndorma, 2012).

b. Résistance extra-chromosomique

Elle a pour support génétique les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique (Lozniewski et al., 2010).

3.3.2. Mécanismes biochimiques de la résistance

A. Modification de la cible

La modification des PLP ou "protéines liant les pénicillines", sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane et qui sont la cible des bêta-lactamines. Trois mécanismes peuvent intervenir (Lozniewski, 2010) :

- La diminution de l'affinité des PLP pour les bêta-lactamines.
- L'augmentation de la synthèse des PLP existantes avec hyper-expression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les bêta-lactamines.
- La synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux bêta-lactamines.

B. Modification de la perméabilité

Elle est due grâce à la mutation affectant la structure des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie ou en diminuant leur synthèse (Lozniewski et Rabaud, 2010).

C. Action des pompes d'efflux

L'efflux repose sur une pompe insérée dans la membrane et capable d'éjecter l'antibiotique hors de la bactérie grâce à un canal, cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique (Martinez et al., 2007).

D. Production d'enzymes inactivant les antibiotiques

Certaines bactéries vont produire des enzymes capables de modifier ou de détruire un antibiotique, conduisant à son inactivité, telle l'hydrolyse de bêtalactamines par les bêta-lactamases, ou les estérifications des aminosides (**Fauchère et Avril, 2002 ; Copyright Medical, 2012**).

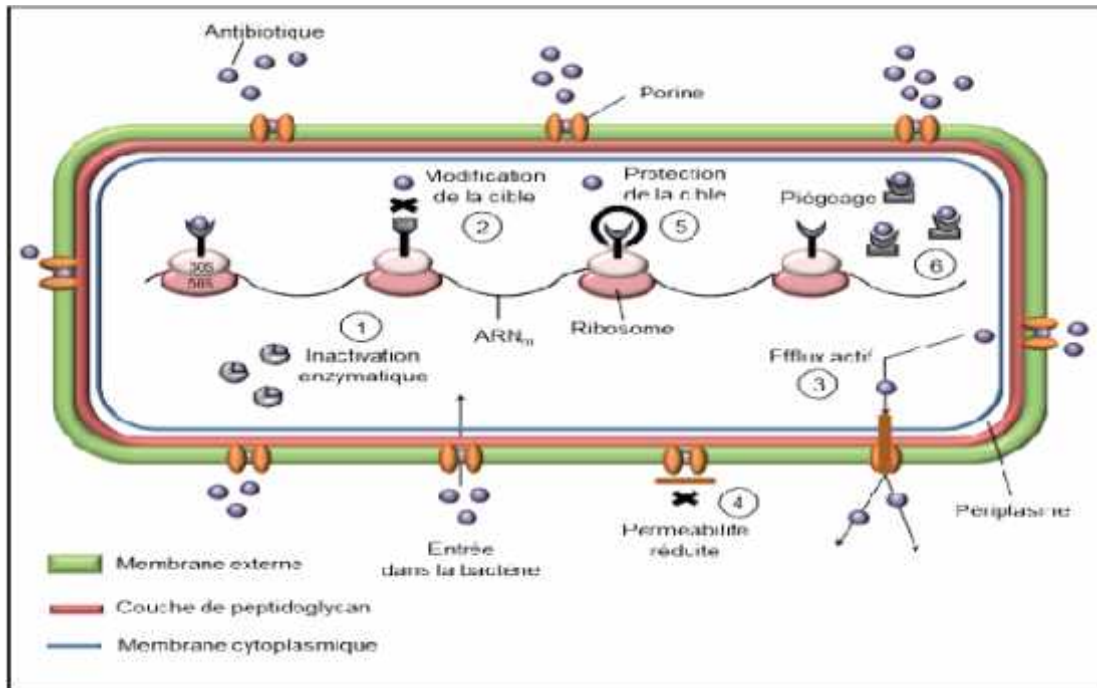


Figure 3 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques.

1. Définition

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante (Sun et al., 2011). Ce sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (Bruneton, 1999).

2. Biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques: Celle de l'acide shikimique (shikimate) et celle issue de l'acétate-malonate (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

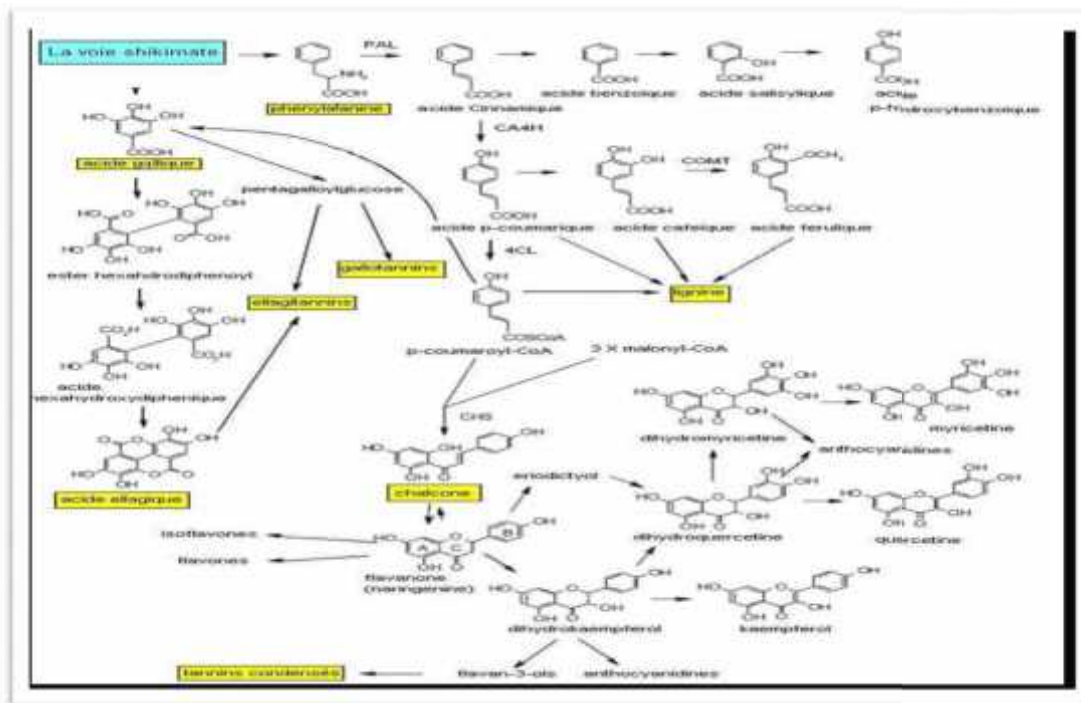


Figure 4: Biosynthèse des composés phénoliques (Mohammedi, 2013).

3. Classification

3.1 Polyphénols monomériques

3.1.1. Acides phénolique

Ils possèdent une seule fonction carboxylique acide. Bien que le squelette de base reste le même, les nombres et les positions des groupes hydroxyles sur le cycle aromatique, font la différence et établissent la variété des structures et de composés (Barboni, 2006 ; Wissam et al., 2012 ; Kumar et al., 2014).

a. Acide phénols dérivés d'acide benzoïque

Sont des hydroxybenzoïques et ont une structure générale de base de type (C6-C1), ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (**Harrar, 2012**).

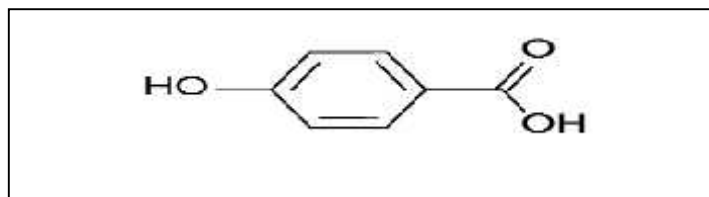


Figure 5 : Structure chimique de l'acide benzoïque (**Crozier et al., 2006**).

b. Acide phénols dérivés d'acide cinnamique

Ils sont des hydroxycinnamiques, souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide p-coumarique et l'acide synaptique (**Kaur, 2014**).

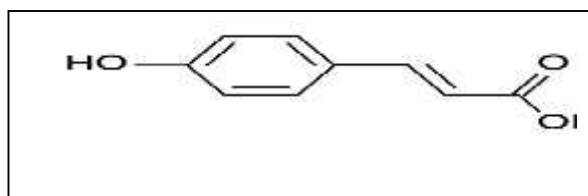


Figure 6 : Structure chimique de l'acide cinnamique (**Crozier et al., 2006**).

3.1.2. Flavonoïdes

Ils ont un squelette de base formé par deux cycles en C6, reliés entre eux par une chaîne en C3, qui peut évoluer en un hétérocycle (**Akroum, 2011 ; Benhammou, 2013**). Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à- dire liée à des oses et autres substances (**Heller et Forkmann, 1993**).

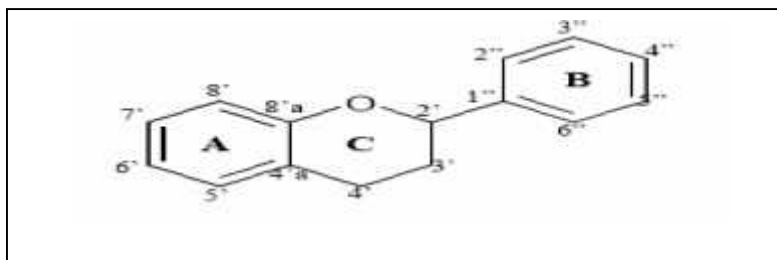


Figure7 : Structure générale des flavonoïdes (**Damian-Rayna et al ., 2016**).

3.2. Polyphénols polymériques

3.2.1. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles (**Kamra et al., 2006**). Ils sont localisés dans les vacuoles. En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (**Rira, 2006**).

a. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters d'acides gallique, ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (**Macheix et al., 2005**).

b. Tanins condensés

Ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et leurs structures est voisine de celle des flavonoïdes. Ils sont plus complexes (**Alilou, 2012**). Ce sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation des unités de flavan-3-4-diol liées par des liaisons C4-C8 ou C4-C6 (**Guirgnard, 2000 ; Achat, 2014**).

3.2.2. Lignines

Ils sont formés par polymérisation oxydative de monolignols (sont les dérivés de l'acide cinnamique), qui sont les alcools p-coumarique, coniférique et sinapique (**Sakagami et al., 2005**). La lignine sert à rigidifier les parois cellulaires (**Cruz et al., 2001**).

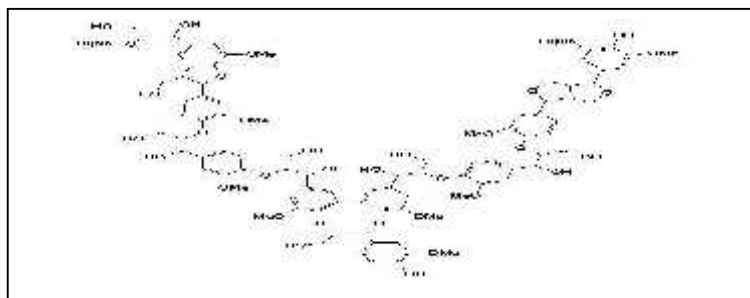


Figure 8 : Structure chimique des lignines (**Scalbert et Williamson, 2000**).

3.2.3. Coumarines

Elles existent sous forme libre, solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides), plus ou moins solubles dans l'eau (**Djemoui, 2012**).

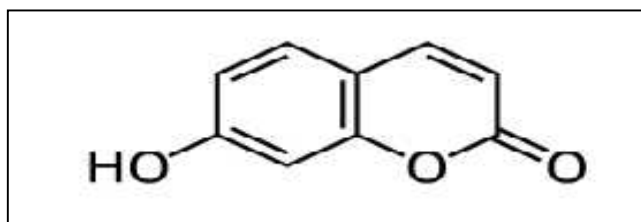


Figure 9 : Structure des coumarines (Djemoui, 2012).

3.2.4. Stilbènes

Sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, le resvératrol et le ptérostilbène, et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress. Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes oxydase et les peroxydases (Perre, 2001).

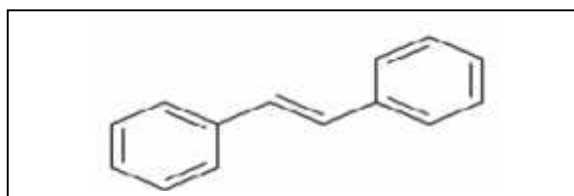


Figure10 : Structure chimique d'un stilbène (Midoun, 2011).

4. Rôles des polyphénols

a. Chez les plantes

Les composés phénoliques en particulier les flavonoïdes seraient impliqués dans un certain nombre de fonctions :

- Ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les pollinisateurs et les disperseurs de graines ;
- Représentent un système de défense contre les microorganismes pathogènes ;
- Protègent les plantes contre les radiations UV en absorbant à la fois ces radiations et les espèces réactives de l'oxygène formées ;
- Interviennent dans la fertilité des plantes et la germination du pollen (Schijlen et al., 2004 ; Stalikas, 2007).

b. Chez l'homme

Plusieurs propriétés biologiques ont été attribuées aux polyphénols:

- Anticancérigènes : flavonoïdes et coumarines (Hirata et al., 2009) ;
- Anti-inflammatoires : flavonoïdes (Vafeiadou et al., 2009), les lignanes (Da Silva et al., 2008), coumarines (Melagraki et al., 2009) ;

- Analgésiques : flavonoïdes (**Sutradhar et al ., 2008**) ; lignanes (**Da Silva et al ., 2005**), coumarines (**Kalkhambkar et al., 2007**) ;
- Antiparasitaires : les composés phénoliques manifestent des activités contre un spectre de parasites (**Felippe et al ., 2008**) ;
- Vasodilatoires : flavonoïdes (**Padilla et al ., 2005**), les lignanes (**Raimundo et al ., 2009**) ;
- L'activité antivirale des flavonoïdes est connue (**Choi et al ., 2009**) ;

5. Méthodes d'extraction des composés phénoliques

La complexité de la structure et la variabilité de la matière végétale, ainsi que la large variété des composés à extraire ont conduit à l'apparition d'une grande variété de technologie d'extraction.

5.1. Extraction assistée par Ultrason

C'est une technique fréquemment utilisée pour l'extraction des composés bioactifs à partir des matières végétales (**Arceusz et al., 2013**).

C'est un nouvel outil permettant d'augmenter les rendements et/ou d'accélérer les cinétiques d'extraction, elle est simple à mettre en place, et permet d'effectuer plusieurs extractions simultanément (**Achat, 2013**).

5.2. Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction par micro-ondes offre un transfert rapide d'énergie et un chauffage simultané de l'ensemble « solvant et matrice végétale solide ». En absorbant l'énergie des microondes, l'eau présente dans la matrice végétale favorise la rupture des cellules, facilitant ainsi la libération des produits chimiques de la matrice et améliorant leur extraction (**Michel et Florent, 2011**).

5.3. Extraction par macération

Elle consiste à la mise en contact du matériel végétal avec le solvant, avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Elle est basée sur la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction, et elle est influencée par une série de facteur, dont la nature du solvant, la durée d'extraction ...etc (**Budic-letoc et al., 2005 ; Spigno et Defaveri, 2007**).

5.4. Extraction au soxhlet

L'extracteur de Soxhlet permet le traitement des solides (matière végétale) avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps en verre de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose (matière pénétrable pour le solvant) remplie de matière végétale. Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant (Sarker et al., 2006 ; Herzi, 2013).

6. Généralités sur *Pulicaria crispa*

1. famille des Asteraceae

La famille des Asteraceae (composées) est l'une des plus distribuée dans le règne végétale. Elle comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces. En Algérie, les Asteracea renferment 408 espèces réparties en 109 genres (Quezel et Santa ., 1963).

Les composées présentent principalement dans les régions tempérés et froides du globe. Elles sont principalement des herbes vivaces ou non, des arbustes ou sous-arbrisseaux. Elles ont la caractéristique commune d'avoir des feuilles réunies en capitules, sans pédoncules, placées à l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée de bractées florales (Dupont et al ., 2012).

2. Présentation de la plante

2.1. Nomenclature

- **Nom latin :** *Pulicaria crispa*
- **Nom vernaculaire :** Couramment appelé « SEBKA » dans le sud algérien (Hoggar, Tamanrasset) , ou « AL JATHJATH » dans l'Arabie saoudite (Alnour ., 2007).

2.2. Systématique

En 1981, **Cronquist** a classé la plante « *P. crispa* » comme suit:

Règne :	plantae
Sous-règne :	Tracheobionta
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Asteridae
Ordre :	Asterales
Famille :	Asteraceae ou compositae
Genre :	<i>Pulicaria</i>
Espèce :	<i>Pulicaria crispa</i>

2.3. Description

Cette plante est une plante à croissance rapide, pousse comme un petit arbuste court, ligneux ou érigé, d'une hauteur de 40 à 50 cm avec plusieurs branches poussant à la base de la plante.

Cette plante est aussi caractérisée par :

- Les feuilles sont vertes olives, réciproques et hérissées, sessiles, cotonneuses, tomenteuses des deux pages de poils blancs ligneux.
- Les fleurs aromatiques apparaissent sous la forme d'un collier jaune de 8 mm de diamètre et sont sphériques, terminales et creuses. Elles sont hétérogames.
- Les fruits cylindriques sont minces de 2 mm avec des soies. Ils sont lisses ou à peine côtelés, parsemés de poils blanc.
- Les racines sont pivotantes latérales de 12 à 75 cm de haut à tiges densément ramifiées de la base de la plante

Elle aime les terrains sablonneux et rocheux et très résistante aux sels. Cette plante est hautement adaptée aux conditions extrêmes du désert et a la capacité de résister aux températures élevées, à la sécheresse et aux sols pauvres. Elle peut être propagée par plantation directe de graines ou par autoproduction (Negre, 1962 ; Chaudhary, 2000).

2.4. Répartition géographique

L'origine de la plante *P. crispa* est l'Arabie saoudite et est répandue presque partout dans la péninsule arabique. On la trouve également en Afrique le long du Sahel, où elle est utilisée pour le fourrage et la culture.

Selon Hussein et al., (2017), le genre *Pulicaria* est réparti entre l'Europe, l'Afrique et l'Asie et comprend 100 espèces, dont 5 en Europe. En Algérie, il existe 16 espèces, dont 4 dans le désert (Boumaraf et al., 2016).

3. Utilisations et propriétés thérapeutiques

P. crispa est riche en divers métabolites secondaires: flavonoïdes, coumarines, tannins, et triterpènes ... (Amany et al., 2010). Elle a de nombreuses utilisations traditionnelles qui sont utilisées pour le traitement de diverses affections, telle les maladies cardiaques, des troubles gastro-intestinaux, du rhume, de la toux, des coliques, de la transpiration excessive et comme carminatif (Yasmin et al., 2015).

D'après de nombreuses recherches plusieurs activités ont été mises en évidence, telles que les propriétés antibactériennes, activités cytotoxiques, antifongiques et anti-inflammatoires et activité antioxydante élevée (**Mohammed et al ., 2017**).

Un grand nombre d'espèces de genre *Pulicaria* sont dotées de diverses activités biologiques à savoir : antilukémique, anti-inflammatoire, chimio préventive potentiel de cancer et génotoxique (**Algabr et al ., 2012**).

Ainsi d'autres activités sont révélées chez certaines espèces de *Pulicaria* telles que : l'activité cytotoxique pour *P. orientalis* ; l'activité antibactérienne pour *P. undulata* et *P. dysenterica* ; l'activité antispasmodique pour *P. glutinosa* ; l'effet antihistaminique pour *P. dysenterica* (**al-hajj, 2014**), activité anti-diarrhéique pour *P. odora* (**Awen et al ., 2010**).

La réalisation du présent travail a été effectué au niveau des laboratoires communs d'analyses physico-chimiques et le laboratoire pédagogique de microbiologie de l'université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou, pendant la période allant de mois d'avril jusqu'au mois de mai, ainsi que le laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalo- Universitaire de Tizi-Ouzou, pendant la période allant du mois de mars au mois de avril.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Pour la réalisation de ce travail, la partie aérienne de la plante *P. crista* a été récoltée, durant le mois de janvier 2018, en période de floraison, au niveau de la région de Hoggar à 80 Km de la willaya de Tamanrasset, au sud de l'Algérie. Le Hoggar couvre une superficie d'environ 50 000Km² et s'élève à une altitude de 2918 m.



Figure 11: Les parties aériennes de « *Pulicaria crista* » (Hoggar, Tamanrasset)

1.2. Souches bactériennes

Des souches bactériennes issues des prélèvements d'infections respiratoires humaines ont été isolées, identifiées et testées vis-à-vis d'antibiotiques, au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou.

Afin de tester l'activité antimicrobienne de l'extrait de la plante, ces souches sont transportées du CHU Tizi-Ouzou vers l'université, dans des tubes à visser contenant un milieu de conservation, revivifiées par la suite à 37°C par repiquages sur gélose nutritive.

1.3. Tests biochimiques

- Galerie API 20NE, Galerie API 20 E et Galerie API Staphylocoque.

Matériel et méthodes

- Oxydase.
- Catalase.

1.4. Milieux de cultures

Les milieux de culture utilisés dans ce travail sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6: Milieux de cultures utilisés.

Milieux de culture	Pourpre de Bromocrésol.	Isolement des souches bactériennes.
	Gélose au sang cuit.	
	Gélose au sang frais.	
	Hektoen.	
	Chapman.	
	Gélose nutritive.	Repiquage des souches bactériennes.
	Citrate de Simmons.	Identification des souches bactériennes.
	Clark et Lubs.	
	Triple Sugar Iron	
	Gélose Muller Hinton.	Aromatogramme et antibiogramme.

1.5. Produits chimiques

Le tableau suivant représente les produits chimiques utilisés :

Tableau 7: Différents produits chimiques et leurs utilisations.

Solvants	Méthanol et l'acide formique.	Extraction des polyphénols.
Réactifs	Folin-Ciocalteu.	Dosage des polyphénols.
	Carbonate de sodium (Na_2CO_3).	
	L'acide gallique.	
Sel	Chlorure de sodium (NaCl).	Préparation de l'eau physiologique.

1.6. Antibiotiques

Amikacine (**AK**), Amoxicilline (**AM**), Ampicilline (**AMP**), Ticarcilline (**TC**), Pipéracilline (**PIP**), Céfalogine (**CF**), Céfoxitine (**FOX**), Céfotaxime (**CTX**), Ceftazidime (**CAZ**), Imipénème (**IMP**), Tobramycine (**TOB**), Gentamicine (**GEN**), Acide nalidixique (**NA**), ciprofloxacine (**CIP**), Ofloxacine (**OFX**), Nitrofurantoïne (**F**), Pefloxacine (**PEF**), Sulfaméthoxazole (**SXT**), minocycline (**MNO**), Colistine (**COL**), Méropénème (**MEM**), Céfépime (**CEF**), vancomycine (**VAN**), chloramphénicol(**CHL**), Kanamycine (**K**), Pristinamycine (**RP**), Fosfomycine (**FF**).

2. Méthodes

2.1. Récolte du matériel végétal

Pendant la cueillette de la plante, elle a été coupée à l'aide de ciseaux, secouée pour éliminer les insectes et le sable, et mise dans du papier pour pouvoir la transporter.

2.2. Préparation de la poudre

L'utilisation de la plante a été précédée par les étapes suivantes :

-) Le séchage : la partie aérienne de la plante est séchée à l'air libre, à l'abri de la lumière et à température ambiante, afin de pouvoir conserver le maximum de métabolites secondaires de la plante.
-) Le broyage : une fois séchée, la plante est ensuite broyée à l'aide d'un broyeur électrique.
-) Le tamisage : le broyat obtenu est tamisé dans une passoire, le produit résultant est une poudre fine prête à l'utilisation.
-) Conservation : Cette poudre est conservée dans un flacon en verre, à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière jusqu'à utilisation.

2.3. Extraction des polyphénols de *Pulicaria crispa*

Cette étape consiste à extraire le maximum de substances actives contenues dans la plante par macération en utilisant dans ce cas le méthanol comme solvant organique.

La macération consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante et qui a l'avantage de préserver les substances thermosensibles.

Matériel et méthodes

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Revilla et al., (2001)**, avec quelques modifications :

- Une quantité de 50g de poudre fine de *P. crispa* a été ajouté à 200 ml du mélange méthanol-acide formique (95-5) ;
- Laisser macérer pendant 72h, ensuite filtrer deux fois avec le tissu mousseline ;
- Récupérer le filtrat dans un flacon.
- Le filtrat est par la suite concentré sous vide à l'aide d'un rotavapeur à 45°C, pour obtenir une solution aqueuse chargée en substances bioactives dans le ballon d'évaporation, le méthanol utilisé est récupérer dans le ballon de récupération;
- L'extrait est conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

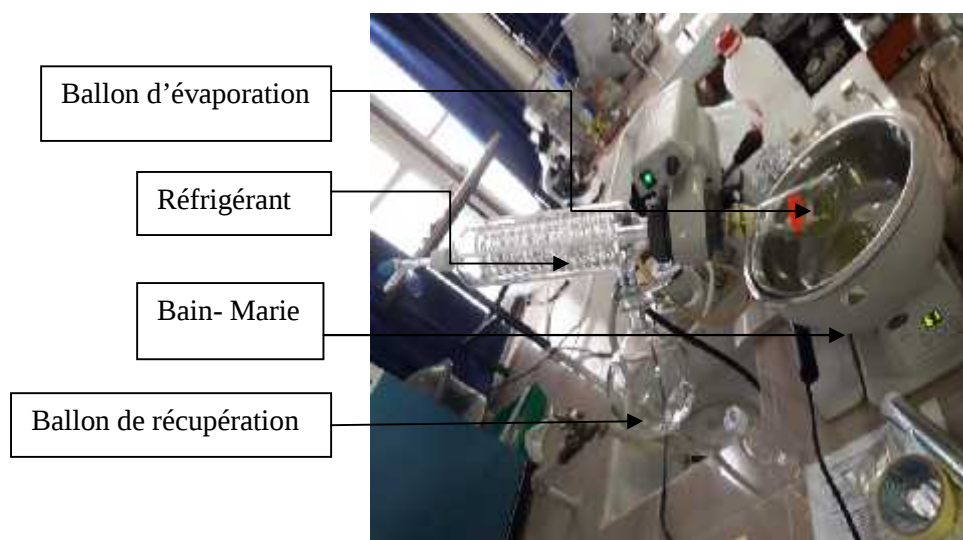


Figure 12: Evaporation du méthanol de l'extrait par le rotavapor

2.4. Rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction selon l'équation suivante décrite par **(Mahmoudi et al, 2013)** :

$$R (\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) \times 100$$

Où : R : le rendement en (%);

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en (g) ;

$M_{éch}$: la masse sèche de l'échantillon végétal en (g).

2.5. Dosage des composés phénoliques

a. Principe

Le contenu des composés phénoliques de l'extrait est estimé par la méthode de Folin-ciocalteu décrite par (Hoganet al., 2009 ; Segade et al., 2008 ; Waterhouse, 2001).

Le principe consiste en la réduction des acides phosphotungstique et phosphomolybdique du Folin –ciocalteu, en présence de polyphénols, en un mélange bleu d'oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration produite, absorbant à 765 nm est proportionnelle aux taux de composés phénoliques oxydés.

b. Mode opératoire

- 10 μ l d'extrait de l'échantillon, ou l'une des concentrations de la gamme étalon;
- 1,58 ml d'eau distillée;
- 100 μ l du réactif de Folin-ciocalteu;
- Le mélange obtenu est laissé 5min à température ambiante à l'obscurité;
- Ajouter 300 μ l d'une solution de bicarbonate de sodium;
- Incuber pendant 2h à une température ambiante à l'obscurité;
- Lire l'absorbance à 765 nm.

Ce protocole est suivi pour chaque dilution de l'extrait, ainsi que celles de l'étalon.

c. Dilution de l'échantillon

L'extrait est dilué à chaque fois au demi ($1/2$), en utilisant le méthanol. On obtient $1/2$, $1/4$, $1/8$, $1/16$

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établis avec l'acide gallique (AG) selon l'équation suivante : $y = ax + b$. Elle est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG /g de matière sèche «MS »).

d. Courbe d'étalonnage

À partir d'une solution mère de l'acide gallique de 1 mg/ml, une série de solutions filles est ainsi préparée, de concentrations allant de 0,1 à 1 mg/ml.

3. Les souches microbiennes

3.1. Prélèvements

Des prélèvements de crachats, de gorges et bronchiques ont été obtenus des patients hospitalisés atteints d'infections respiratoires hautes ou basses, au niveau de services d'hématologie, de pédiatrie ou de réanimation.

3.2. Isolement

Tous les prélèvements analysés durant cette étude sont passés par une étape d'isolement. Le prélèvement de crachat, peut être directementensemencé sans dilution au préalable. Par contre, ceux de gorges et bronchiques, un volume de 1ml d'eau physiologique leur est ajouté. L'isolement se fait en stries, avec la méthode de cadrans sur les milieux de cultures suivants : BCP, GSF et GSC, Chapman et Hektoen. Les boîtes de Petri sont incubées à 37 °C pendant 24 heures. Une purification des souches a été réalisée en procédant à des repiquages successifs.

3.3. Identification

L'identification des souches bactériennes précédemment citées est basée surtout sur l'étude de leurs caractères morphologiques et biochimiques.

3.3.1. Caractères macroscopique

Cette étape consiste à l'étude des caractères morphologiques visibles à l'œil nu, tels que la couleur, la forme, le contour, le relief, la consistance, la taille et l'odeur.

3.3.2. Caractères microscopiques

3.3.2.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries à Gram négatif qui apparaissent roses et les bactéries à Gram positif qui apparaissent violettes. Cette différence de coloration est liée à des différences de nature de la paroi bactérienne.

3.3.2.2. Caractères biochimiques

Matériel et méthodes

Pour une identification biochimique des germes retenus, une galerie API 20E, API 20 NE et API Staphylocoque sont utilisées, en plus de quelques tests de la galerie classique, dont :

A. Test de TSI

A.1. Principe

Pour la mise en évidence de la fermentation des trois sucres (glucose, saccharose, lactose), et l'appréciation de la production ou non d'H₂S et de noter la production ou non de gaz.

A.2. Technique

L'ensemencement est réalisé par piqure centrale dans le culot puis par stries sur la pente, la lecture se fait après 24 heures d'incubation à 37°C.

A.3. Lecture

La fermentation des sucres se traduit par le virage de la couleur du milieu au jaune, le dégagement de gaz se traduit par la formation des bulles de gaz dans la masse du culot, alors que la production d'H₂S se traduit par le noircissement du milieu.

B. Test de catalase

La catalase est un caractère quasi-constant chez les staphylocoques. La mise en évidence de la catalase permet de distinguer parmi les cocci à Gram positif, les staphylocoques (cat+) et les streptocoques (cat -). Il s'agit de mettre en contact une colonie de la bactérie à étudier en présence de peroxyde d'hydrogène. Une effervescence (dû à un dégagement de dioxygène) signe la présence d'une catalase.

C. Test d'oxydase

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme: la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif: le N diméthyl paraphénylène diamine. Ce dernier peut être sous deux formes : soit en solution, soit sous forme d'un disque pré-imprégné.

- Si la colonie prend une teinte rose, violette. Le germe possède une oxydase : le test est positif.
- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, le test est négatif.

D. Test de coagulase

Le test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma est le principal test caractérisant *S. aureus*. Le test de détection consiste à incuber pendant 4 heures à 37°C un mélange de plasma et de la souche à tester. L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 90°.

E. Galerie API 20

E.1. Principe

La galerie API 20 est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries.

La galerie API 20 comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée, ces microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

E.2. Technique

E.2.1. Préparation de la galerie

- Mettre l'eau distillée stérile sur le fond de la boîte (partie alvéolée) ;
- Placer la galerie sur le fond de la boîte ;
- Recouvrir la boîte avec son couvercle ;
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

E.2.2. Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API 20E, ou un tube contenant l'eau physiologique ;
- A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé ;
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisation soigneusement.

E.2.3. Inoculation de la galerie

Matériel et méthodes

- Introduire la suspension bactérienne dans les microtubes de la galerie à l'aide d'une pipette Pasteur;
- On réalise une anaérobiose pour les tests spécifiques de chaque germe et qui sont soulignés en remplissant leur cupule d'huile de paraffine (ADH, ODC, LDC...);
- Refermer la boîte d'incubation, incuber à 37°C pendant 24 heures.

E.2.4. Lecture

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification des souches est obtenue à l'aide du tableau d'identification du catalogue analytique.

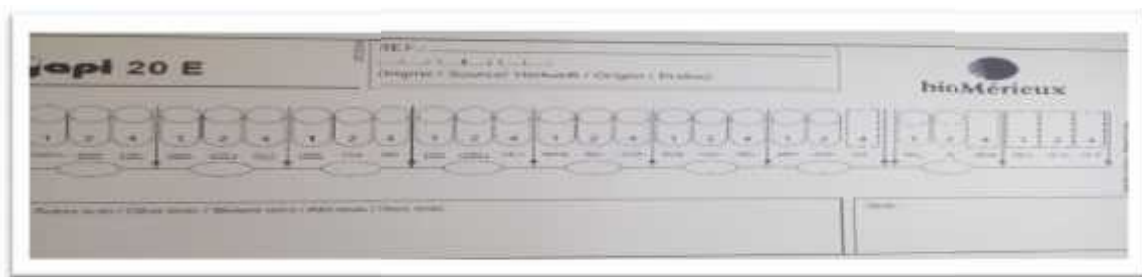


Figure15: Schéma de la galerie API 20E.

4. Antibiogramme

La sensibilité aux antibiotiques des souches étudiées a été testée en se basant sur deux méthodes d'antibiogramme :

4.1. Antibiogramme classique en milieu gélosé (méthode de disques)

Les tests de sensibilité aux antibiotiques des souches identifiées ont été réalisés selon la méthode standard, recommandée par le comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie (**CA-SFM 2019**). Elle consiste à déposer des disques d'antibiotiques sur milieu, puis leur incubation à 37°C pendant 18h à 24h.

La figure suivante explique les étapes essentielles de la procédure de réalisation de l'antibiogramme.

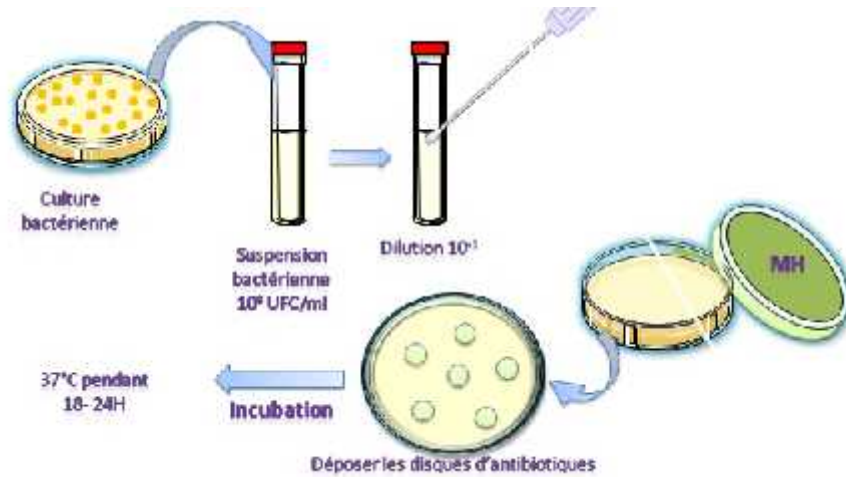


Figure16: schéma explicatif de l'antibiogramme standard

4.2. L'antibiogramme en milieu liquide automatisé (Vitek)

Les étapes de l'antibiogramme liquide se font de la façon suivante :

- Préparation de l'inoculum ;
- Lecture de la DO (doit être comprise entre 0,08 et 0,1) ;
- Dépôt des plaques d'antibiotiques dans les tubes (contenant l'inoculum) ;
- Incubation 3h à 8h dans le Vitek ;
- Enregistrement des informations (Noms des patients, services, âge et le type de prélèvements) ;
- Impression des résultats.



Figure 17 : Photo du vitek

5. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose, décrite par OULHADJ et al. (2014)., pour l'évaluation de son effet.

5.1. Repiquage des espèces bactériennes et préparation des pré-cultures

Les différentes souches bactériennes cliniques ont été repiquées par la méthode de stries sur la gélose nutritive, à partir des milieux de conservation puis incubées à 37°C, afin d'avoir une culture jeune moins de 18h en phase exponentielle de croissance, qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

5.2. Préparation de la suspension bactérienne

A partir de la culture bactérienne jeune, quelques colonies sont prélevées avec une anse de platine, et remises en suspension dans l'eau physiologique stérile. Une agitation et ensuite effectuée au vortex, pendant quelques secondes pour bien homogénéiser la suspension, leur densité optique (DO) de 0,08 à 0,10 lue à une longueur d'onde de 625 nm, qui correspond à une concentration de 10^6 à 10^8 germes / ml.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

5.3. Test de sensibilité à l'extrait par la méthode de diffusion sur gélose

5.3.1. Préparation des disques et les milieux de culture

Les disques sont préparés à partir de papier Whatman, avec un diamètre de 6 mm. Ensuite, ils sont mis dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à utilisation.

La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulé dans des boîtes de pétrie stériles. L'épaisseur de la gélose est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

5.3.2. Ensemencement

Matériel et méthodes

Des boîtes de Pétri stériles préalablement coulées sont ensemencées par écouvillonnage, en stries très serrées par trois passages, à l'aide d'un écouvillon trempé dans la suspension bactérienne. L'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries, en faisant pivoter les boîtes de pétrie de 60°.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier Whatman imprégnés avec 10 µl d'extrait phénolique, sont déposés délicatement à la surface de la gélose inoculée au préalable.

5.3.3. Lecture des résultats

L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37° C.

- Un disque de papier Whatman imprégné de méthanol a servi de témoin négatif.

La sensibilité aux extraits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit :

- Non sensible (-) : pour le diamètre moins de 8 mm ;
- Sensible (+) pour un diamètre entre 8 et 14 mm ;
- Très sensible (++) pour un diamètre entre 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus de 20 mm (**Moreira et al ., 2005**).

6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

Pour ce test, la méthode de diffusion de disques a été choisie. En premier lieu, des suspensions bactériennes ont été préparé à partir de cultures jeunes de 18h, puis ensemencées sur la gélose MH et laisser sécher.

Ensuite des disques de papier wattmen de 6mm de diamètre, préalablement stérilisés sont déposés à la surface de la gélose, après avoir été chargés de 10µl d'extrait à tester diluer dans le méthanol à 1/2 , 1/4 , 1/8, 1/16, 1/32 et 1/64.

Après 24h d'incubation à 37°C, les diamètres d'inhibition sont mesurés.

Résultats et discussions

1. Caractéristiques de l'extrait

L'extrait obtenu est d'aspect visqueux, non miscible avec l'eau, d'une couleur brune verdâtre et d'une odeur aromatique. Ce même résultat est obtenu par **Dali (2017)**, pour la même plante « *Pulicaria crispa* » recueillie au Hoggar, Tamanrasset.

2. Rendement

Dans cette étude, le rendement a été déterminé par rapport à 50g de matière végétale, préparée à partir des feuilles, tiges et fleurs. Le poids de l'extrait est déterminé par la différence entre le poids d'une boîte de pétrie contenant l'extrait et celui d'une boîte vide.

Le rendement d'extraction est le rapport entre la quantité de substances naturelles, extraites par l'action extractive d'un solvant et la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction, la composition de l'échantillon et l'environnement de la plante (climat et sol) (**Angkawijaya et al., 2014**).

Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 8: Poids de l'extrait et le rendement d'extraction des composés phénoliques de la plante *P. crispa*.

Méthode d'extraction	Poids d'extrait (g)	Le rendement (%)
Macération (méthanol-acide formique ; 95: 5).	7,257	14,51

Des taux d'extractions inférieures à celui qu'on a obtenu pour l'extrait méthanolique, de la partie aérienne de la plante *P. crispa* sont enregistrés par **Dali (2017)**, avec une valeur de 8,83% pour la même plante. Pour le même genre, **Monthana et Lindquist (2005)** ont trouvé un taux de 2,98% pour *Pulicaria stephanocarpa*. Par ailleurs des taux d'extractions supérieures à celui qu'on a trouvé ont été aussi obtenus, 17,62% en 2013 par **Hammiche et Ouazzene**, et un taux de 22,02% par **Gaci et Lahlani(2017)** pour la plante *Pulicaria odora L.*

Alzoreky et Nakahara (2003), ont montré des taux d'extractions inférieures concernant les extraits acétoniques, 4% pour *Chrysanthemum coronarium* et 8% pour

Résultats et discussions

Pulicaria orientalis par rapport à celui qu'on a trouvé pour l'extrait méthanolique de *Pulicaria crispa*.

L'extraction des polyphénols des plantes médicinales est l'une des principales étapes de nombreuses études biologiques et thérapeutiques. Le rendement de cette extraction peut être affecté significativement par plusieurs paramètres, dus à la différence d'espèces, à la partie de la plante utilisée, sa taille ainsi que sa composition et les conditions de sa conservation. Le pH, la présence de substances interférentes sont aussi des paramètres importants pour une meilleure extraction. (Nawaz et al., 2006 ;Vuong et al., 2013).

Selon (Safdar et al., 2017), cette différence ainsi observée dans le rendement peut être probablement liée à la divergence des solvants (méthanol, acétone et chloroforme...), la polarité du solvant, la solubilité, ainsi qu'autres paramètres tels que la concentration du solvant, la température, le temps d'extraction et la méthode d'extraction.

3. Dosage des composés phénoliques totaux

La quantification des polyphénols totaux de l'extrait méthanolique des tiges, des feuilles et des fleurs de *P. crispa* a été effectuée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = 0.608x - 0,010$; $R^2=0,983$), réalisée dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalents de l'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g MS) (Wong et al., 2007).

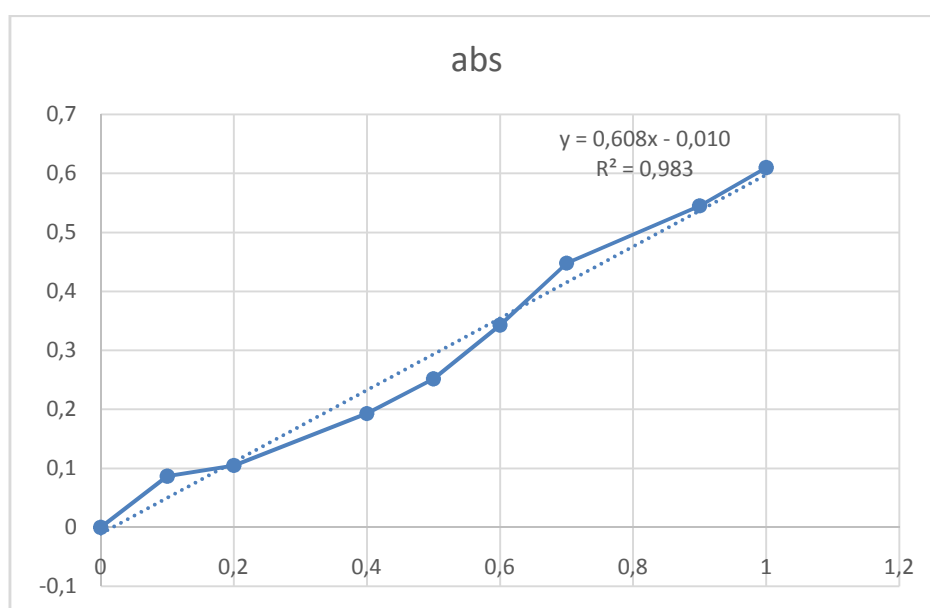


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Résultats et discussions

A partir des dilutions préparées de l'extrait, la dilution 1/64 suit la loi de Beer Lambert, dont l'absorbance était 0,684 nm. Le résultat obtenu pour le dosage des polyphénols totaux de *P. crista*, par macération a donné une valeur de 2,43 mg EAG/g MS.

Des teneurs en polyphénols totaux assez élevées comparant à celle qu'on a obtenue pour l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *P. Crista* sont observées.

Gaci et Lahlani (2017) ont enregistré 55,06 mg EAG/g MS pour l'extrait méthanolique de feuilles de *P. odora* et 50,14 EAG/g MS pour l'extrait des racines de *Carthamus caeruleus*.

La quantification des polyphénols a aussi donné des valeurs inférieures à celle qu'on a trouvée. **Hammiche et Ouazzen (2013)**, ont calculé 90µg EAG/g MS pour l'extrait des feuilles et 73µg EAG/g MS pour l'extrait des racines de *P. odora*.

Cette différence de teneur en polyphénols totaux serait due aux composants des polyphénols, qui sont susceptibles de subir une dégradation, une oxydation ou une hydrolyse. De plus d'autres paramètres peuvent influencer sur la quantification des polyphénols, tels que : la variété et le mode de conservation de ces extraits, les conditions environnementales, la période et le stade de développement de la plante (**Madi, 2010 ; Lagha-Benamrouche et Madani, 2013**).

Ainsi que les paramètres liés à l'extraction notamment la nature et la concentration du solvant, la relation solvant-solide, la température et le temps d'extraction (**Aboshora et al., 2014 ; Al-Anbari et Hasan, 2015 ; Li et al., 2016**).

Selon **Al-Anbari et Hasan, (2015)**, la teneur en polyphénols est également influencée par la différence d'espèce, le tissu analysé et l'origine géographique de la plante.

4. Isolement et identification

Ce travail s'est étalé sur une période de deux mois (mars et avril), pendant laquelle on a pu identifier 19 souches sur 29 prélèvements d'origine d'infection respiratoire reçus au sein du laboratoire de microbiologie du CHU Tizi Ouzou, 12 sont prélèvements de gorge, 9 sont des prélèvements de crachats et 8 autres sont des prélèvements bronchiques.

Sur les 19 prélèvements positifs effectués, on note 7 prélèvements de gorge, 6 sont des prélèvements de crachats, et 6 autres sont des prélèvements bronchiques.

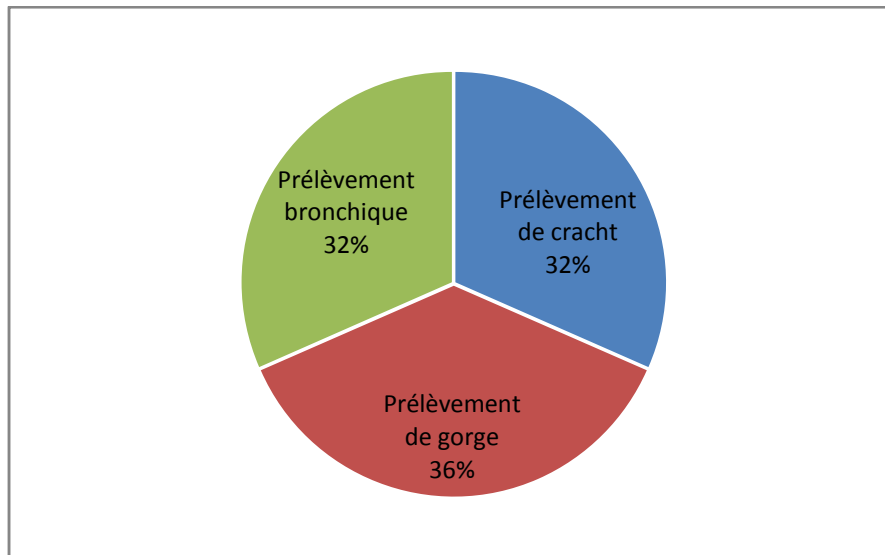


Figure 17: Répartition des germes selon le type de prélèvements.

Les deux méthodes d'identification automatique ou standard ont donné de bons résultats, qui permettent de déterminer l'agent pathogène responsable d'une infection, ainsi que sa sensibilité à un panel d'antibiotiques.

Nous avons aussi pris en compte les résultats des galeries API pour les différentes bactéries isolées. La lecture des résultats de la galerie API se fait grâce au logiciel Api web. Il suffit de faire entrer les résultats (+ ou -) de chaque test biochimique (exemple ONPG+, ADH- ...) pour avoir l'identification de la bactérie.

4.1. Répartition des souches étudiées

L'identification des souches isolées sur la base des caractères morphologiques et biochimiques, a permis de caractériser au total 16 souches à Gram négatif, elles représentaient des entérobactéries, dont nous avons identifiées une souche de *P. mirabilis*, deux souches d'*E. cloacae*, 5 souches de *K. pneumoniae*, en plus de 8 souches de BGN avec 3 souches de *P. aeruginosa* et 5 *A. baumannii*. En outre on a pu isoler 3 souches à Gram positif de *S. aureus*.

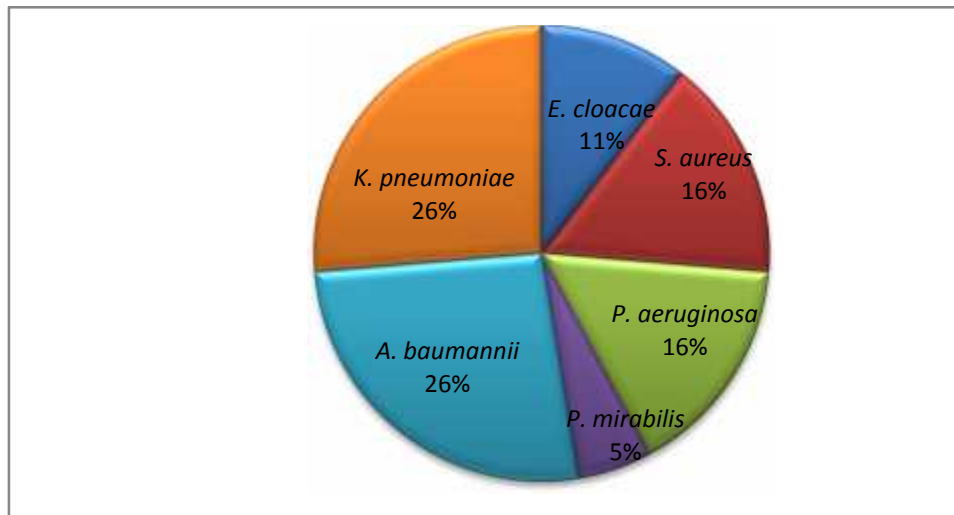


Figure 18: Répartition des souches bactériennes identifiées.

Dans ce travail, la dominance des germes était partagée entre *A. baumannii* et *K. pneumoniae* (26%), suivi par *P. aeruginosa* et *S. aureus* (16%), ensuite *E. cloacae* (10,53%) et enfin *P. mirabilis* avec 5%.

La prédominance des souches d'*A. baumannii* et *K. pneumoniae* peut être expliquée par la persistance de ces souches dans l'environnement hospitalier. Cette persistance est favorisée d'un côté par la production de biofilms qui permet une plus grande résistance aux antibiotiques et aux désinfectants, d'un autre côté par l'antibiothérapie multiple.

(karmer et al., 2006).

4.2. Répartition des germes selon la coloration de Gram

Pendant cette étude, les germes les plus isolés étaient des bacilles à Gram négatif avec un pourcentage de 84%, par rapport aux cocci à Gram positif avec un pourcentage de 16%.

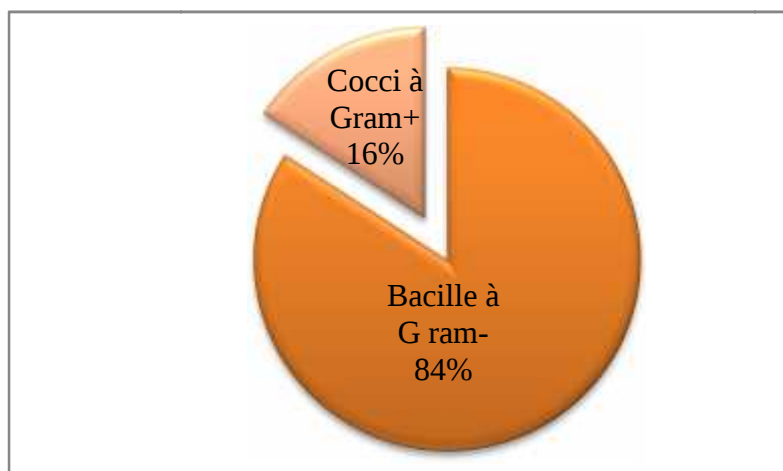


Figure 19 : Répartition des germes selon la coloration de Gram

En effet, les bacilles à Gram négatif en particulier les entérobactéries, occupent une place très importante en pathologie humaine infectieuse. Cette importance s'explique aussi bien par la variété des espèces bactériennes qui les composent et leur fréquence au niveau de la santé des populations (**Seng et al., 2010 ; Murray et al., 2010**).

5. Taux de prélèvements analysés selon le sexe

Les prélèvements provenaient de patients atteints de maladies respiratoires hautes et basses, avec 18 Patients du sexe masculin, ce qui équivaut de 62% et 11 du sexe féminin qui représente 38%, avec un facteur de sexe ratio H/F est 1,63.

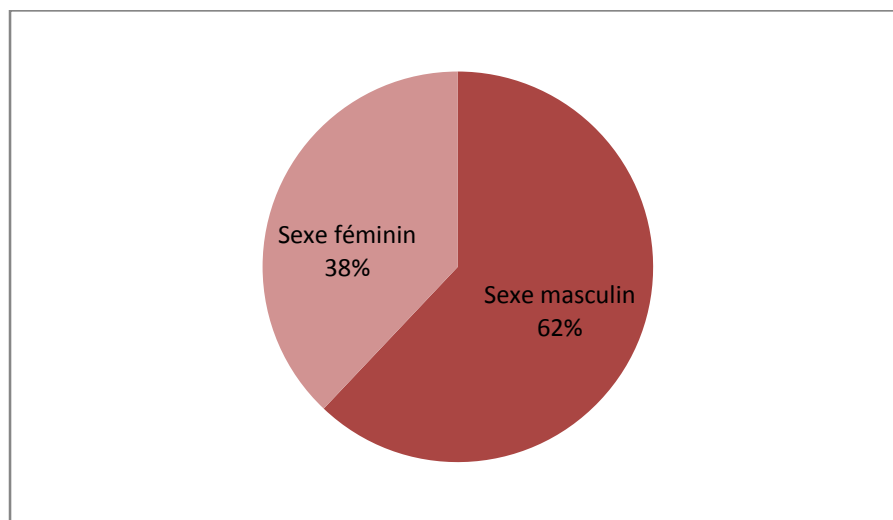


Figure 20 : Répartition des patients selon le sexe.

Le sexe masculin semble plus susceptible aux infections respiratoires. **Stansfield, (1987)**, rapportait que le sexe masculin faisait approximativement 1,5 fois plus d'infections respiratoires que le sexe féminin dans les pays en développement bien que les taux de létalité soient comparables, cela peut être due au facteur de tabagisme chez cette catégorie masculine.

Nos résultats sont comparables à ceux retrouvés dans une autre étude effectuée à Annaba en 2013 qui montre aussi un taux plus élevé d'infections respiratoires chez la catégorie masculine (**Ramoul et al., 2013**).

6. Répartition des prélèvements selon le service

Résultats et discussions

Selon la figure 21, le taux des prélèvements positifs diffère légèrement selon les trois services concernés par l'étude. Ainsi, 9 prélèvements sont issus du service d'hématologie, 7 au niveau du service de réanimation et 3 du service de pédiatrie.

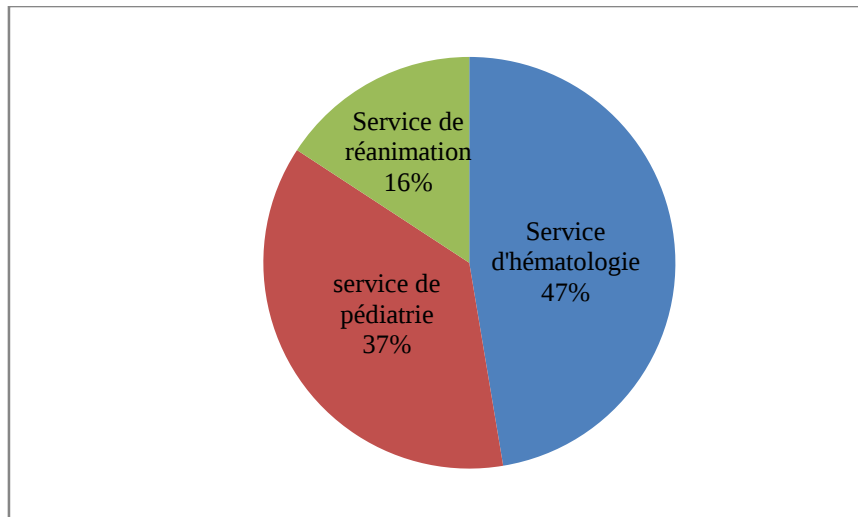


Figure 21: Répartition des prélèvements selon le service.

Le tableau ci-après résume les résultats obtenus pendant notre étude.

Tableau 9: Tableau récapitulatif des résultats.

	Gram	sexe	Service	Prélèvement
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	Négatif	F	Hématologie	PG
<i>K. pneumoniae</i> (2)	Négatif	H	Hématologie	Crachat
<i>K. pneumoniae</i> (3)	Négatif	H	Réanimation	ECBB
<i>K. pneumoniae</i> (4)	Négatif	F	Hématologie	Crachat
<i>K. pneumoniae</i> (5)	Négatif	H	Pédiatrie	Crachat
<i>Acinetobacter baumannii</i> (1)	Négatif	H	Réanimation	Crachat
<i>A. baumannii</i> (2)	Négatif	H	Hématologie	PG
<i>A. baumannii</i> (3)	Négatif	H	Hématologie	PG
<i>A. baumannii</i> (4)	Négatif	H	Hématologie	PG
<i>A. baumannii</i> (5)	Négatif	H	Réanimation	ECBB
<i>P. mirabilis</i>	Négatif	H	Pédiatrie	ECBB
<i>P. aeruginosa</i> (1)	Négatif	H	Réanimation	ECBB
<i>P. aeruginosa</i> (2)	Négatif	H	Réanimation	ECBB

Résultats et discussions

Tableau 9: Tableau récapitulatif des résultats.(Suite)

<i>P. aeruginosa</i> (3)	Négatif	F	Réanimation	ECBB
<i>E. cloacae</i> (1)	Négatif	F	Hématologie	PG
<i>E. cloacae</i> (2)	Négatif	F	Hématologie	PG
<i>S. aureus</i> (1)	Positif	F	Pédiatrie	Crachat
<i>S. aureus</i> (2)	Positif	F	Réanimation	Crachat
<i>S. aureus</i> (3)	Positif	F	Hématologie	PG

H : Homme F : Femme PG : Prélèvement de gorge ECBB : Etude cyto bactériologique bronchique.

7. Evaluation de l'antibiorésistance

Nous avons testé la résistance et la sensibilité de 19 souches, précédemment isolées et identifiées, vis-à-vis les différentes familles d'antibiotiques. Les résultats sont illustrés dans le tableau et les figures ci-dessous

7.1. Le profil de résistance de *K. pneumoniae*

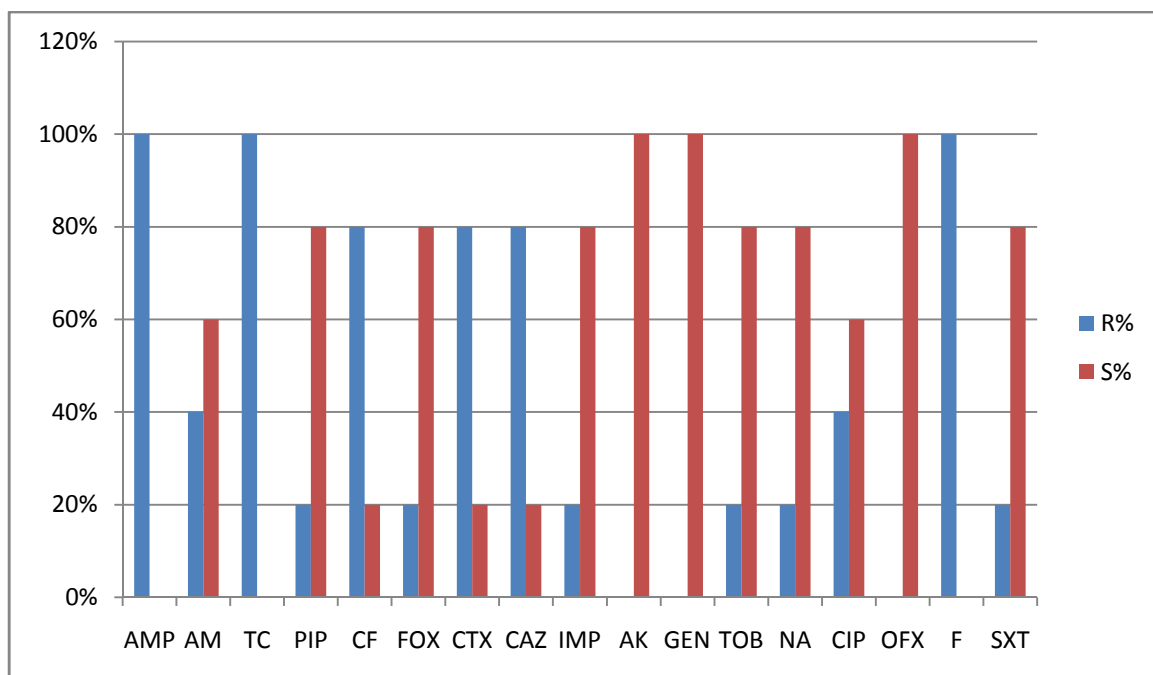


Figure 22: Taux de résistance et sensibilité des souches *K. pneumoniae* vis-à-vis des antibiotiques testés

Les souches de *K. pneumoniae* étudiées présentent une résistance importante vis-à-vis de la famille des b-lactamines avec des taux de résistance de 100% à l'ampicilline, et

Résultats et discussions

ticarcilline, 80% pour céphalotine, céphotaxime et céphthazidime, alors que l'amoxicilline est moins touché avec un taux de 40%, suivi de pipéracilline, céphoxitine et l'imipinème avec un taux de 20%. Cependant, ces mêmes souches se sont montrées sensible à l'amikacine, la gentamicine, tobramicine et l'ofloxacine.

Nos résultats sont en concordance avec **Diakhate(2011)**, qui a trouvé que *K. pneumoniae* est sensible à l'amikacine, gentamicine, l'imipinème et aux quinolones.

7.2. Le profil de résistance d'*A. baumannii*

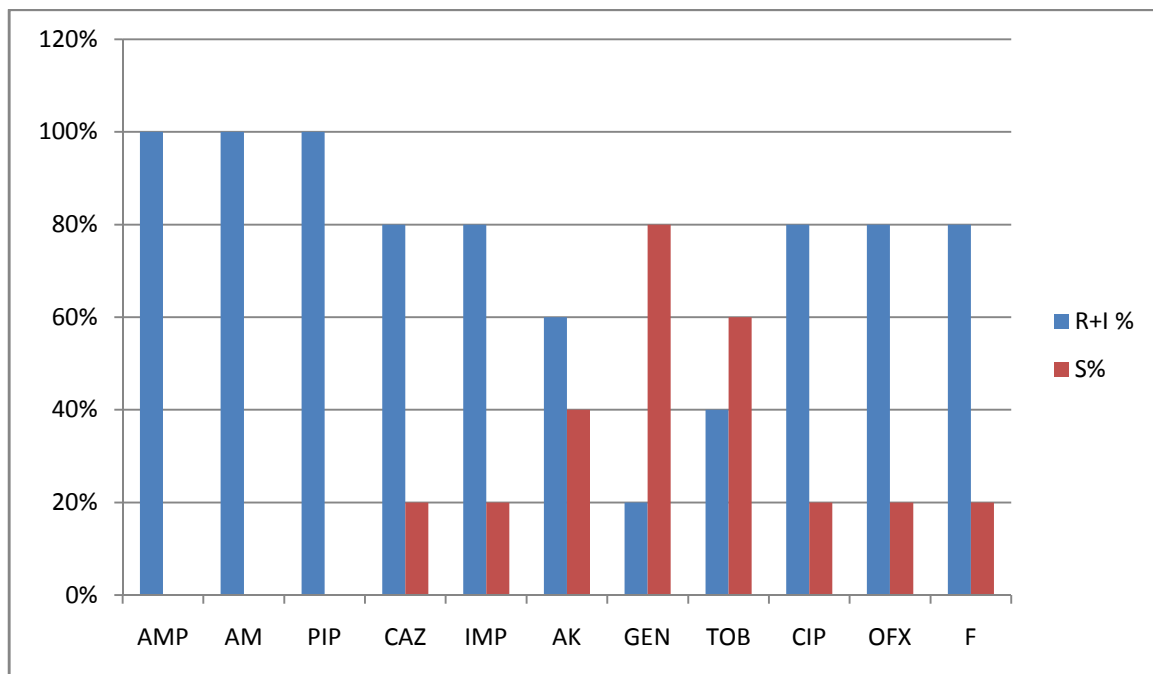


Figure 23: Taux de résistance et sensibilité des souches d'*A. baumannii* vis-à-vis des antibiotiques testés

La majorité des souches d'*A. baumannii* possèdent une résistance à la famille des b-lactamine, avec des taux de 100% pour l'ampicilline, l'amoxicilline et la pipéracilline, et 80% pour l'imipénème et la céphthazidime, de même pour ciprofloxacine et l'ofloxacine qui font partie de la famille des quinolones. Tandis qu'elles présentent une sensibilité à la famille des aminosides avec un taux de 80% pour la gentamycine et 20% pour la tobramycine.

Résultats et discussions

La prévalence des souches d'*A.baumannii* résistantes aux carbapénèmes rapportée dans notre étude est supérieure à celles enregistré par **Ramoul en 2013**, où la résistance des souches d'*A. baumannii* était due à la production de plusieurs types de carbapénémases essentiellement (60.86%).

Une étude récente est réalisée par (**Kaboré et al., 2016**) a apporté un résultat de 97,3% de résistance pour ciprofloxacine, 77,2% pour gentamicine et 89,1% pur l'imipénème.

A. baumannii est un germe qui est présent dans l'environnement et commensal des muqueuses de l'homme. Depuis quelques années, ce germe est considéré comme un pathogène opportuniste responsable d'un taux croissant d'infections sévères. Plusieurs épidémies dues à cette bactérie ont été répertoriées, touchant principalement les patients immunodéprimés, sous une antibiothérapie et exposés à des séjours prolongés (**Lahsoun et al., 2007**).

De nombreuses études ont rapportées la prédominance de ces infections dans les services de réanimation. La capacité de survie dans des conditions rudimentaires, la résistance naturelle et la grande diversité des plasmides confèrent à la bactérie un potentiel d'acquisition des résistances.

7.3. Le profil de résistance de *P.aeruginosa*

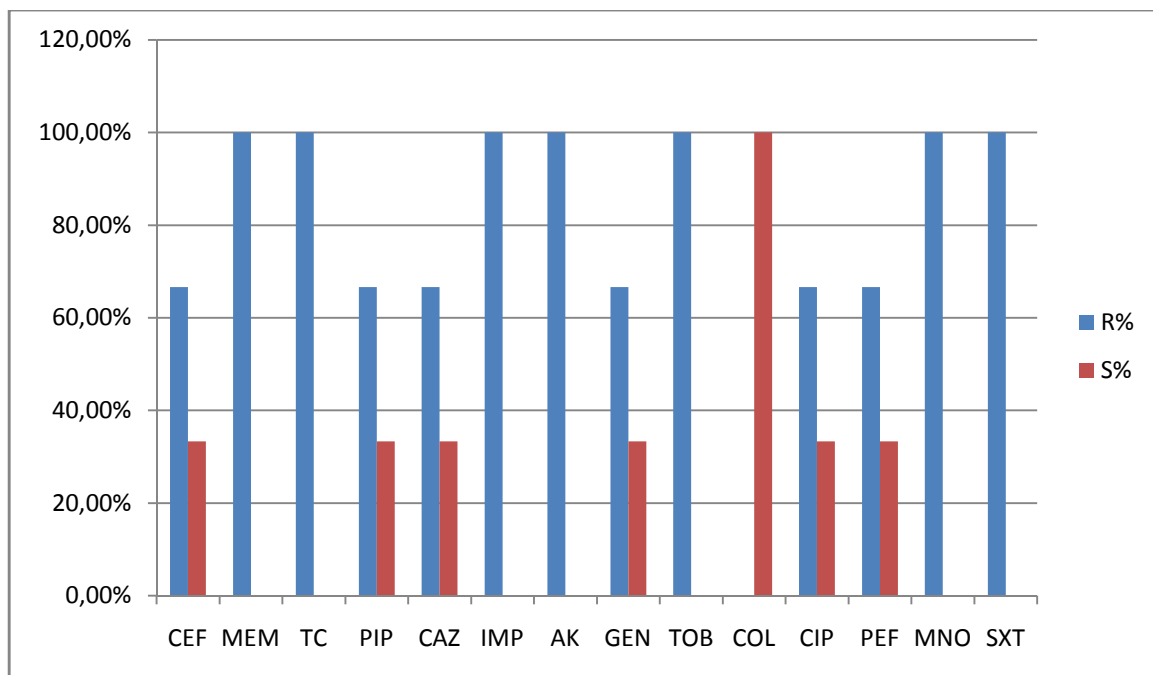


Figure 24 : Taux de résistance et sensibilité de *P.aeruginosa* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Résultats et discussions

P.aeruginosa présente une multi résistance aux 13 ATB testés, avec 100% de résistance pour méropénème, ticarcilline, imipénème, amikacine, la tobramicine, minocycline ainsi que sulfaméthoxazol, et 66,66% pour céfépime, pipéracilline, céftazidime, gentamicine, ciprofloxacine et péfloxacin. Tandis qu'une sensibilité de 100% est notée pour la colistine.

P.aeruginosa est naturellement résistante à de nombreux antibiotiques, car il sécrète une céphalosporinase qui provoque l'inactivation des b-lactamine. Cette bactérie présente de très nombreux mécanismes comme l'imperméabilité par déficits en porines ou par mutation de lipopolysaccharide, et surtout par des mécanismes de pompes à efflux ce qui justifie sa multirésistance (Rio Y et al., 2002).

7.4.Le profil de résistance de *S. aureus*

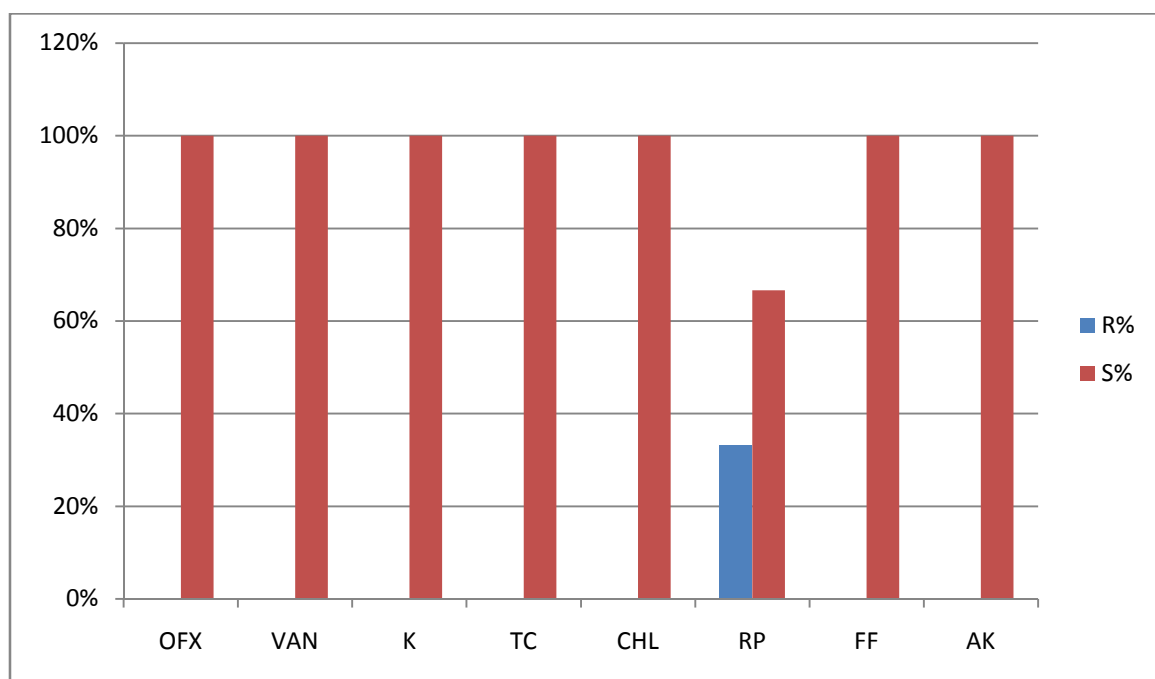


Figure 25 : Taux de résistance et sensibilité des souches *S. aureus* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Les souches de *S. aureus* ont montré une résistance élevée vis-à-vis de tous les antibiotiques testés avec un taux de 100% pour la famille des aminosides représentés par, la Vancomycine, l'amikacine et la kanamycine, de même pour l'ofloxacine, la ticarcilline, chloramphénicol et la fosfomycine. Une légère résistance est signalée pour pristinamycine avec un taux de 33,33% de résistance.

Résultats et discussions

7.5. Le profil de résistance de *P. mirabilis* et *E. cloacae*

Tableau 10 : Résultats de l'antibiogramme d'*E. cloacae* et *P. mirabilis*

ATB	AMP	AM	TC	CF	FOX	CTX	CAZ	IMP	AK	GEN	TOB	NA	CIP	OFX	F	SXT
E.cloacae 1	NT	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
E. cloacae 2	NT	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	I	S	I	R
P.mirabilis	S	S	NT	NT	R	R	NT	NT	NT	S	NT	NT	NT	R	NT	NT

NT : Non testé

D'après le tableau, on remarque que les deux souches d'*E. cloacae* sont 100% résistantes à la famille des b-lactamine (AM, CF, FOX) ainsi qu'au nitrofurantoin. Et elles manifestent une forte sensibilité (100%) à l'imipénème, l'amikacine et à l'ofloxacine. Une seule souche de *P. mirabilis* a été testée avec 6 antibiotiques, dont le taux de résistance et sensibilité était égal.

8. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des composés phénoliques de l'extrait de *P. crista* est déterminée à partir de la solution mère et celle des dilutions allant de 1/2 jusqu'à 1/64, qui ont été préparées pour la détermination de la CMI vis-à-vis des souches cliniques testées.

Le tableau suivant montre les concentrations de l'extrait (mg/ml) qui correspondent aux différentes dilutions :

Tableau 11 : Concentrations des dilutions de l'échantillon.

Dilutions	1/2	1 /4	1/8	1/16	1/32	1/64
Concentrations mg/ml	1,215	0,607	0,303	0,151	0,075	0,037

Cette activité est mise en évidence en utilisant la méthode de diffusion sur milieu gélosé (MH), décrite par **OULHADJ et al. (2014)**., en utilisant le méthanol comme témoin négatif. Elle se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier Wattman imprégné de l'extrait.

Résultats et discussions

La lecture des résultats est faite par une mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque après 18h à 24h d'incubation à 37°C, à l'aide d'une règle.

Un microorganisme est considéré sensible aux antibiotiques et aux extraits, si le diamètre de la zone d'inhibition est > 8 (Duraffourd et Lapraz, 2002 ; Moreira et al., 2005).

La figure suivante illustre les résultats obtenus.

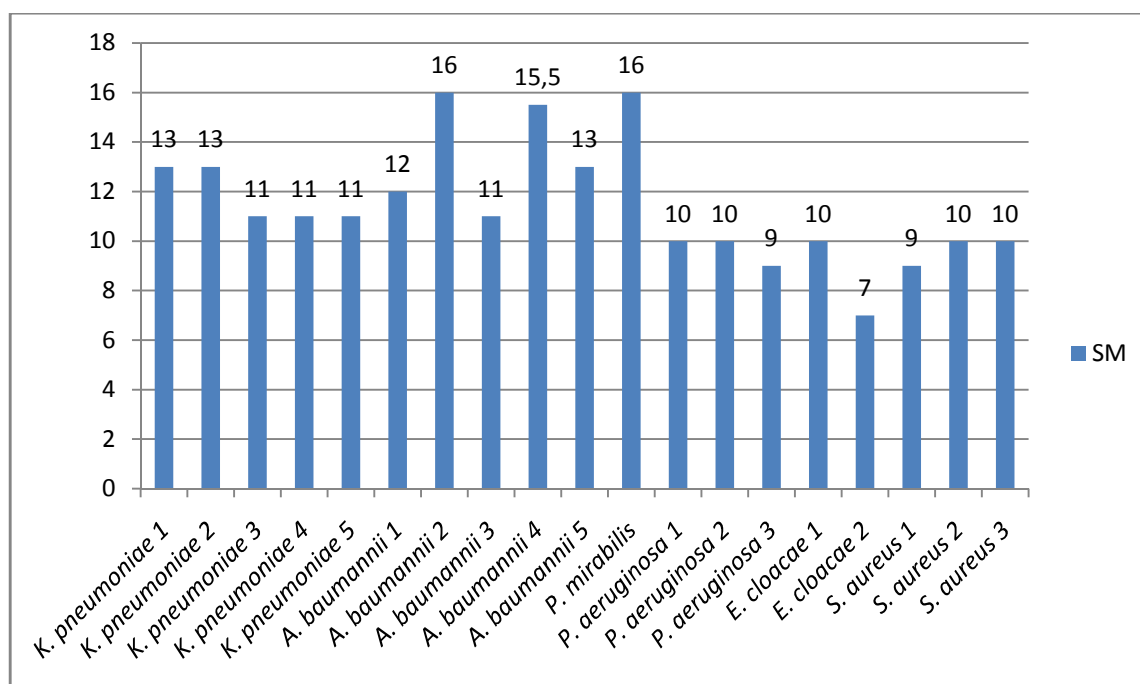


Figure 26: Répartition des germes selon les diamètres de zones d'inhibition de l'extrait.

Malgré une faible teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique de *P. crispata* on remarque qu'il présente une bonne activité antibactérienne vis-à-vis des différentes souches étudiées. Cela peut être expliqué par le caractère autant qualitatif que quantitatif des composés présents dans l'extrait.

Il ressort à travers l'observation des zones d'inhibitions représentées dans la figure 39, que pour la solution mère de l'extrait de la partie aérienne de *P. crispata*, que toutes les souches bactériennes testées manifestent des zones d'inhibition, dont le diamètre varie de 9 à 16mm, à l'exception de *E. cloacae* 2 ($\varnothing=7$ mm), qui se révèle résistante vis-à-vis de l'extrait.

Résultats et discussions

Une bonne activité antibactérienne est notée pour les bactéries Gram négatif plus précisément *P. mirabilis* et *A. baumannii* 2, avec une zone d'inhibition de 16 mm. *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* sont également sensibles à l'extrait, pour lesquelles nous avons constaté des zones d'inhibition de 9 à 10 mm et de 11 à 13 mm respectivement. Le *S. aureus* qui est une bactérie Gram positif s'est montré légèrement sensible, avec des diamètres d'inhibition de 9 et 10 mm.

Les travaux menés par **Gaci et Lahiani, (2017)** sur *P. odora* montrent que les extraits méthanoliques et chloroformiques ont une activité très importante que celle qu'on a trouvée pour *S. aureus*, avec des zones d'inhibition de 17,5 et 15,5 mm respectivement.

Nos résultats sont comparés à ceux obtenus par **Foudah et al., (2015)**, qui ont trouvé des diamètres d'inhibition de *S. aureus* non significatif (< 8 mm), testés par l'extrait de *P. crista*. Le même auteur a trouvé un diamètre d'inhibition de 28 mm pour *K. pneumoniae*. Cette zone est supérieure à celle qu'on a obtenue pour le même germe.

Une autre étude faite par **Hamid Yousfi, (2015)** rapporte que l'extrait de la même plante étudiée *P. crista* a donné une zone d'inhibition élevée de 17 mm pour *P. aeruginosa*.

La différence de sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des composés phénoliques qui possèdent des structures, qui leur permettent de diffuser à travers la membrane microbienne, pénétrer dans la cellule, inhiber l'expression de l'ADN, la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (**Ulanowska et al., 2006 ; Ansari et al., 2013**).

Ainsi, les différentes classes de polyphénols essentiellement les tannins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre du groupement hydroxyle présent sur le composé phénolique (**Harrar, 2012**).

9. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Une série de dilution a été préparée afin de déterminer la CMI des souches étudiées, suivant la méthode de diffusion sur milieu gélosé MH (**V-G de Billerbeck, 2007**).

La zone d'inhibition correspondant à la dernière dilution, pour laquelle une croissance bactérienne a été constatée représente la dilution de l'extrait dont la concentration correspond à la concentration minimale inhibitrice.

Résultats et discussions

Tableau 12: Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait phénolique des souches étudiées.

	SM	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	13	10	8	7	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (2)	13	9	7	0	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (3)	11	8	0	0	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (4)	11	8	7	0	0	0	0
<i>K. pneumpniae</i> (5)	11	10	7	0	0	0	0
<i>Acinetobacter baumannii</i> (1)	12	10	9	7	6,5	0	0
<i>A. baumannii</i> (2)	16	10	8	7,5	0	0	0
<i>A. baumannii</i> (3)	11	9	8,5	7	0	0	0
<i>A. baumannii</i> (4)	15,5	10	7	6,5	0	0	0
<i>A. baumannii</i> (5)	13	9	0	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	16	10	9	7,5	6,5	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i> (1)	10	0	0	0	0	0	0
<i>E. cloacae</i> (2)	7	0	0	0	0	0	0
<i>S. aureus</i> (1)	9	7	0	0	0	0	0
<i>S. aureus</i> (2)	10	7	6,5	0	0	0	0
<i>S. aureus</i> (3)	10	8	7	6,5	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i> (1)	10	7	0	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i> (2)	10	7	0	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i> (3)	9	0	0	0	0	0	0

D'après les résultats obtenus, nous pouvons constater que les concentrations minimales inhibitrices de l'extrait méthanolique de la plante sont variables selon les souches.

La limite d'inhibition de l'activité antimicrobienne est marquée au niveau de la dilution 1/4, pour laquelle on a enregistré pour *K. pneumoniae* 1, un diamètre de 8mm, pour *A. baumannii* 1, 2, 3 des diamètres de 9, 8, 8,5mm respectivement et 9mm pour *P. mirabilis*.

La limite d'inhibition pour les souches qui restent est marquée à la dilution 1/2 dont *K. pneumoniae* 2, 3, 4,5 avec des diamètres de 9, 8, 8,10 mm respectivement. *A. baumannii* 4 et 5, avec 10, 9 mm de diamètres respectivement, pour *S. aureus* 1, le diamètre était de 8mm.

En ce qui concerne les souches qui n'ont pas d'activité antimicrobienne dans leurs dilutions, la solution mère est la concentration minimale inhibitrice.

Résultats et discussions



K. pneumoniae



A. baumannii



P. aeruginosa



S. aureus



E. cloacae



P. mirabilis

Figure 27 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait phénolique de la plante « *P. crispa* ».

Conclusion

Les infections respiratoires constituent un problème majeur de la santé publique, ce qui nous a conduit à diriger notre étude vers l'isolement et l'identification des germes responsables de ces infections, au sein des services du CHU de Tizi-Ouzou, afin d'en étudier leur profils de résistance aux différents antibiotiques utilisés dans ces services. Pour cela 29 prélèvements ont été analysé et à partir desquels on a identifié 16 souches de BGN, dont *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* et *E. cloacae*, ainsi que 3 souches de *S. aureus*. La plupart d'entre elles se sont révélées résistantes aux différentes familles d'antibiotiques.

La dissémination des souches résistantes liée à la circulation des gènes entres les bactéries, rend compte de la rapidité avec laquelle évolue le phénomène de la résistance au sein du monde bactérien et le développement de bactéries multirésistantes. Ce résultat nous a poussés à chercher d'autres solutions à travers l'étude de plantes médicinales. Ce travail a porté sur l'étude de la plante *P. crispera* appartenant à la famille des Asteracea, récoltée au sud Algérien (Hoggar, Tamanrasset), vu le manque de données et d'études évaluant le potentiel antibactérien de cette plante.

Ainsi, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis des souches étudiées. Ceci par l'extraction des polyphénols de l'extrait brut par macération dans le méthanol. L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir un rendement de 14,51%, tandis que le dosage de polyphénols par la méthode de Folin-ciocalteu a donné un résultat 2,43 mg EAG/g MS. L'extrait phénolique révèle une sensibilité importante des souches bactériennes testées avec des diamètres d'inhibition allant de 8 à 16 mm.

En ce qui concerne les concentrations minimales inhibitrice (CMI) de notre extrait, ont révélé que *A. baumannii* (2, 3, 4), *P. mirabilis* et *K. pneumoniae* 1, sont les trois espèces sensibles à l'extrait méthanolique pour la dilution 1/4.

Notre étude montre que *P. crispera* peut être utilisé comme source naturelle d'agent antibactérien. Dans cette étude nous avons utilisé un extrait brut ce qui nous ne renseigne pas sur les composé actifs responsable de l'activité antibactérienne. Il serait donc important et intéressant :

- D'extraire les composés phénoliques par fractionnement ;
- D'orienter la recherche vers d'autres parties de la plante (les racines) ;

Conclusion

- De procéder à différentes méthodes d'extraction par une multitude de solvants ;
- De réaliser des tests complémentaires tels que les activités antifongiques, anti oxydante, anti inflammatoire...etc
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

Références bibliographiques

- J **Aboshora W., Lianfu Z., Dahir M., Qingran M., Qingrui S., Jing L., Al-Haj N.Q.M. et Ammar A.F. (2014).** Effect of extraction method and solvent power on polyphenol and flavonoid levels in *Hyphaene Thebaica L Mart* (Arecaceae) (Doum) fruit, and its antioxydnt and antibacterial activities. *Tropical Journal Of Pharmaceautical research.* 13(12): 2057-2063.
- J **Achat S. (2014).** Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université A. Mira-Bejaia Algérie.77-79.
- J **Akroum S. (2011).** Etude analytique et bioloique des flavonoides naturelles. Thèse de doctorat en science. Université Mentouri Constantine. Algérie. 113p.
- J **Al-Anbari A.k.H. et Hasan M.A. (2015).** Antioxydant activity in some Citrus leaves and seeds ethanolic extracts. *International Conference on Advances in Agricultural, Biological and Environnemental Sciences.* 93-97.
- J **Algabr M.N., Ameddah S., Menad A., Mekkiou R., Chalchat JC., Benayache S., et Benayache F. (2012).** Essential oil composition of *Pulicaria jaubertii* from Yemen. *Short communication.* 2 (4) : 688-690.
- J **Al-Hajj N.Q.M., Wang H.X. Ma., Lou C., Bashari M. (2014).** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of aromatic medicinal plants (*Pulicaria inuloides*-Asteraceae and *Ocimum forskolei*-Lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceautical Research.* 13 (8): 1287-1293.
- J **Raimundo A., Julish W.D., Kusunick C. et Lindesquist U. (2001).** Screening of Yamani medicinal plant for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of Enthnopharmacology.* 74:173-179.
- J **Alilou H. (2012).** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens* subsp. *Odorus (Schousb). Greuter* et *Asteriscus imbricatus* (Cav) DC. Thèse de Doctorat en sciences. Université IbnZohr. Agadir, Maroc. 215p.
- J **Alnour A.A. (2007).** Potency of *Pulicaria crispa* (forssk) oliv. (Asteraceae) on bulinus truncatus host snails of schistosomes. Thèse de doctorat de philosophie en biologie. Université de Kartoun.120.

Références bibliographiques

-] **Alzoreky N.S. et Nakahara K. (2003).** Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*. 80 : 223- 230.
-] **Amany S., Shalaby N., Abd-Alla H., Ahmed S., Khaled H. et Bahgat M. (2010).** Immunostimulatory effects of extract of *Pulicaria crispa* before and after *Schistosoma mansoni* infection *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*. 67:75-79.
-] **Amazian K., Rossello J., Castella A., Sekkat S., Terzaki S., Dhidah L. et al. (2010).** Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the Mediterranean region. *East Mediterr Health J*. 16: 1070-1078.
-] **Sakagami K. et Patra J.S. (2010).** A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*. 71: 1198-1222.
-] **Andremont A. (1993).** AntibioGramme : données générales sur les modes d'action et les mécanismes de résistance. *Rev. Prat, Paris*. 43, 19 : 2545-2547.
-] **Angkawijaya A.E., DO Q.D., Tran- Nguyen P.L., HUYNH L.H., Soetardejo F.E., Ismadji S. et JU Y-H. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxydant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*. 22: 296-302.
-] **Anne B-G. et al. (2011).** Resistance among problem respiratory pathogens in pediatrics. *Pediatr Infect Dis Journal*; 14:420-3. 9.
-] **ANOFEL. (2014).** Parasitologie médicale. Généralités et définition « Association française des enseignants de parasitologie et mycologie» [https /www. Ecosysteme.fr](https://www.Ecosysteme.fr) (épidémiologie).
-] **Ansari M., Zeeshan F. et Saif H. (2014).** Sesamol a natural phenolic compound hich promising anticandidal potentiel. *Journal of Pathogens*.10: 1-12.
-] **API 20 E.(2002).** Système d'identification des entérobactéries *Bio Mérieux S. A. France*.
-] **Arceusz A., Wesolowski M., Konieczynski P. (2013).** Methods for Extraction and Determination of Phenolic Acids in Medicinal Plants. *Natural Product Communications*, 8(12): 1821-1829.
-] **Avril J.L. et Monteil H. (2000).** Bactériologie Clinique. 3e édition, Ed Ellipse, Paris [1, 2] : 6-39.
-] **Avril J.L., Dabernat H. et Monteil H. (1992).** Bactériologie clinique. Ed Ellipse, Paris. 45-48.

Références bibliographiques

-] **Awen B.Z., Unnithan C.R., Ravi S. et Lakshmanan A.J. (2010).** GC-MS analysis, antibacterial activity and genotoxic property of *Erigeron mucronatus* essential oil. *Natural Product Communication*. 5: 621-624.
-] **Azerbaidjan B. (2001).** Plan d'action stratégique européen sur la résistance aux antibiotiques. Organisation Mondiale de la Santé-EUROPE .1P.
-] **Bakhoun I. (2004).** Contrôle qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne. *Thèse Pharm. N°8*.
-] **Barboni T. (2006).** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse de doctorat. Université de Corse Pascal Paoli.98-95.
-] **Cruz F. (2005).** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de Doctorat en chimie organiques. Université Mentouri-Constantine. Algérie. 199 p.
-] **Benhammou N., 2011** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'ouest et du sud-est Algérien. Thèse de doctorat en biologie Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 113p.
-] **Black J.G. (2012).** Microbiology: principles and exploitations. 8ème edition. JOHN WILEY & SONS. 975p.
-] **Blondain B. (2005)** « Les levures bonnes à tout faire ». CNRS le journal. N°188, septembre 2005.
-] **Boumaraf M., Mekkiou R., Benyahia S., Chalchat J., Chalard P., Benayache F. et Benayache S. (2016).** Essential oil composition of *Pulicaria undulate* (L). DC. (Asteracea) GroiWng in Algeria (International Journal of pharmacognosy and phytochemical research. 8(5); 746- 749.
-] **Bouzide W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane MC et Ayachi A. (2011).** Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des extraits de l'Aubepine Monogyne. *Lebanese Science Journal*. 12, 59-69.
-] **Brown P.D. et Lerner S. A. (1998).** Community-acquired pneumonia. *Lancet*. 352:1295-1302.
-] **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème édition. Tec&Doc. Paris.

Références bibliographiques

- J **Bryskier A. (1999).** Antibiotiques et agents Antibactériens : classification et relation structure activité. In : Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Ed. Ellipses, Paris. pp. 5457.
- J **Budic-Letoc I., Lovric T., Pezo I. et Klujuzuric J.G. (2005).** Study of dynamics of polyphenol extraction during traditional and advanced maceration processes of the babic grape variety. Food Technology and Biotechnology. 43(1): 47-53.
- J **CA-SFM. (2019).** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Communiqué.
- J **Chaabane A., Aouama K., Boughattas N.A. et Chakroun M. (2009).** Allergie aux bétalactamines: mythe et réalités. Ed Elsevier Masson. Médecine et maladies infectieuses. 39 :278-287.
- J **Chaudhary S.A. (2000).** In : Flora of the kingdom of saudi arabia (Part3),vol.2.M minestry of Agriculture and Water, Riadh, Saudi Arabia. pp 432.
- J **A, Rhazi Filali F, Amine A et Zerhouni M. (2011).** Effet bactéricide (in vitro) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (*Punica granatum L.*) sur des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. Phytothérapie. 9, 158-164.
- J **Choi H.J., Kim J.H., Lee C-H., Ahn Y.J., Song J.H., Baek, S.H. et Kwon D.H. (2009).** Antiviral activity of quercetin 7-rhamnoside against porcine epidemic diarrhea virus. 69 : 44–45.
- J **Chouaid C. (1999).** Pathologie infectieuse et parasitaire. Dans : HOUSSET B. *Abrégé de Pneumologie*. 6 : 168-177.
- J **Copyright Medical. (2012).** Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. Fiche. N°824. Mécanisme-R-ATB
- J **Crozier A., Del Rio D. et Clifford M.N. (2010).** Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds. *Molecular Aspects of Medicine*. 31: 446–467.
- J **Da Silva R., Saraiva J., De Albuquerque S., Curti C., Donate P.M., Bianco T.N.C., Bastos J.K. et Silva M.L.A. (2008).** Trypanocidal structure–activity relationship for cis- and trans-methylpluviatolide. *Phytochemistry*. 69 : 1890 – 1894.
- J **Dali Yahia M.K. (2017).** Etude phytochimique bioguidée de plantes aromatique sahariennes. thèse de doctort. Université abou bekr belkaid –tlemcen.
- J **Damian Rayna A.A., Gonzalez-Hernandez J.C et Chavez-Parga M.C. (2016).** Current procedures for extraction and purification of Citrus flavonoids current extraction of citrus. *Revue of Colombia. Technology*. 18(1):135-147.

Références bibliographiques

-] **Demoré B, Grare M, Duval R. (2012).** Pharmacie clinique et thérapeutique 4ème édition. Chapitre 40 : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. Elsevier Masson; 2012.
-] **Diakhate Absa. (2011).** Infections respiratoires basses nosocomiale d'origine bacterienne. Etude bactériologique et de sensibilité aux antibiotiques.
-] **Djemoui D. (2012).** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées, Mémoire Master Académique.53p.
-] **Drame B. (2001).** Microméthode d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries : Intérêts thérapeutiques. *Thèse Pharm., Dakar. N° 86.*
-] **Dupont F., Guignard J-L. et Pelt J-M. (2012).** Botanique : les familles de plantes. 15^e édition. Issy-Les-Moulineaux : Elsevier Marsson. 300p. (abrégés de pharmacie).
-] **Fauchère JL. et Avril JL. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Edition Ellipses, Paris. 365 :367 :520p.
-] **Felippe L.G., Baldoqui D.C., Kato M. J., Bolzani V.S., Guimaraes E.F., Cicarelli R. M. B. et Furlan M. (2008).** Trypanocidal tetrahydrofuran lignans from *Peperomia blanda*. *Phytochemistry*. 69 : 445–450.
-] **Flore D. (2011).** Caractérisation de nouvelles molécules et variabilité chimique de trois plantes du continuum Corsesar daigne: *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* et *Eryngium maritimum*. Thèse de doctorat en Chimie. Université de corse-pascal paoli. 234 p.
-] **Floret N., Bertrand X., Thouverez M. et Talon D. (2009).** Infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* : origine exogène ou endogène de la bactérie responsable .*Pathologie Biologie*. 57 : 9-12.
-] **Fomba Modibo (2006).** Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter* et des *Staphylococcus* a coagulasse négatif à l'hôpital du point G. thèse de doctorat enpharmacie.107-110.
-] **Foudah A.I., Aftab A., Soliman A.G., Salkini M.A ., El Moustasim O.I. et al., (2015).** Pharmacognostical , antioxidant and antimicrobial study of areal part of *P. crispa* (Family: Asteraceae)
-] **Francoise. et Van Bambeke. (2013).** Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti infectieuse, Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire Université catholique de Louvain. p30,p 35.

Références bibliographiques

-] **Gaci Y. et Lahlani S. (2017).** Evaluation de l'activité antimicrobienne et cicatrisante d'extraits de deux plantes de la Région de kabylie: *Pulicaria odora* L. et *Carthamus caeruleus* L.
-] **Grace Yim. (2011).** L'Attaque des super bactéries: Résistance aux antibiotiques. The Science Creative Quarterly. Issue Six. Lapsus Nivium.
-] **Guignard J.L. (2000).** Biochimie végétale. 2ème édition. *Dunod*. 188-485.
-] **Hamid Yousfi M. (2015).** Dépistage phytochimique et activité antimicrobienne de l'extrait entier de *P. crispa*.
-] **Hammiche H. et Ouazzene N. (2013).** Activité antibactérienne des extraits de *Pulicaria odora* L. Mémoire fin d'étude. Université Abderahmane Mira de Bejaia.56.
-] **Harrar A.E.N. (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbas. Sétif. Algérie.73 p.
-] **Hart T. et Shears P.** Atlas de poche de microbiologie 1^{ère} edition Flammarion-médecine- science paris. p71.
-] **Heller W. et Forkmann G. (1993).** The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman et Hall, London. UK. p 399-425.
-] **Herzi N. (2013).** Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse de docteur. Université de toulouse.
-] **Hirata T., Fujii M., Akita K., Yanaka N., Ogawa K., Kuroyanagi M. et Hongo D.(2009).** Identification and physiological evaluation of the components from Citrus fruits as potential drugs for anti-corpulence and anticancer Bioorganic & Medicinal Chemistry. 17: 25-28.
-] **Hooper DV. (2002).** Emerging Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance. Emerging Infectious Diseases. 7 : 337-341.
-] **Humair JP; Kaiser L. (2013).** Prevalence of nosocomial infections at the Bab El Oued University Hospital-algiers. Medicine et maladies infectieuses. 24(2): 96-101.
-] **Hussein S. R., Marzouk M.M., Soltan M.M., Ahmed E.K., Said M.M. et Hamed A.R. (2017).** Phenolic constituents of *Pulicaria undulata* (L.) C. A. Mey. Sub sp. Undulata (Asteraceae): Antioxidant protective effects and chemosystematic significances. Journal of Food and Drug Analysis. 25: 333-339.

Références bibliographiques

- J **Kalkhambkar R.G., Kulkarni G.M., Shivkumar H. et Rao R.N. (2007).** Synthesis of novel triheterocyclic thiazoles as anti-inflammatory and analgesic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 42 : 1272 -1276.
- J **Karou D., Dicko MH., Simpore J, and Traore AS. (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*. 4 (8), 823-828.
- J **Keita Y., Koné O., Ly AK et Häkkinen V. (2004).** Étude chimique et de l'activité antibactérienne des distillats de quelques variétés de mangue de Guinée. *Comptes Rendus Chimie*. 7, 1095-1100.
- J **King P. (2012).** Infections respiratoires à *Haemophilus influenzae*: intérêt du céfuroxime axétil. *Journal. Gen. Microbiol* (21):22-26.
- J **Kaur K.B., GHA A., Sabikhi H. et Singh A.K. (2014).** Significance of coarse cereals in health and nutrition. *Journal Of Food Science and technology*. 51(8): 1429-1441.
- J **Karmer A., Schwebke I. et Kampf G. (2006).** How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis*. 6:130.
- J **Kumar H., Chaudhary N., Varsha A., Kumar N., Suma N. et Seth R. (2014).** Phenolic compounds and their benefits: A review. *Journal of food Research and Technology*. 2(2):46-59
- J **Labayle D. (2001).** « Guide Pharmaco », édition Lamare, Paris, 2001, P 586.
- J **Lagha- Benamarouche S. et Madani K. (2013).** Phenolic content and antioxydant activity of orange varieties (*Citrus sinensis L* and *Citrus aurantium L*) cultivated in Algeria: Peels and leaves. *Industrial Crops and Products*. 50: 723-730.
- J **Lahsoun M., Boutayeb H., Zerouali K., Belabbes H. et El mdaghri N. (2007) .** Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d'*A.baumannii* dans un CHU marocain. *Méd Mal Infect*.37: 828-831.
- J **Larry M.B. et Maria T.P. (2017).** Infections streptococciques. Edition professionnelle du Manual MSD. Streptococcaceae. Paris : Médecine-Sciences Flammarion, 795-834.
- J **Levallois M.P. (2004).** Larousse Médicale. Paris p 576-740.
- J **Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F. et Tian Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chimestry*, 102: 771-776.

Références bibliographiques

- J **Li Y., Lai P., Chen J., Shen H., Tang B., Wu L. et Weng M. (2016).** Extraction optimization of polyphenols, antioxydant and xanthine oxidase inhibitory activities from *Prunus Salicina* Lindl. Food Science and Technology. 36(3): 520-525.
- J **Lozniewski A., Rabaud C. et Nancy. (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins .CCLIN Sud-Est.
- J **Macheix J.J., Fleuriet A. et sarni-manchado P. (2006).** Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc, Paris. France. p:1-28.
- J **Madi A. (2010).** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister. 116p.
- J **Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L). 37p.
- J **Mariko R. (2005).** Caractères bactériologiques et place de *streptococcus pneumoniae* dans les infections bactériennes invasives chez les enfants hospitalisés dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel tour. Thèse de doctorat.
- J **Martin S. et andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie. 51 : 304- 315.
- J **Martinez L.R. et casadevall A. (2007).** Cryptococcus neoformance biofilm formation depends on surface support and carbon source and reduces fungal susceptibility to heat, cold and UV light applied and environmental microbiologie. 4592- 4601.
- J **Maurya R., Yadav D.K., Singh G., Bhargavan B., Murthy P.S.N., Sahai M. et Singh M.M. (2009).** Osteogenic activity of constituents from *Butea monosperma* Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 19: 610–61.
- J **Mbengue S-A. (1997).** Evaluation de la prescription des antibiotiques dans la région de Dakar. Thèse Pharm, Dakar: p73.
- J **Michel T. (2012).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Thèse de doctorat. Université d'Orléans. 289p.
- J **Michellin Kansole R. (2009).** Etude ethnobotanique phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkinafaso. Diplôme d'études approfondies (D.E.A). Université Ouagadougou. 76p.

Références bibliographiques

-] **Michon A.L. et Machanda H. (2015).** Diversité physiopathologique du microbiote respiratoire. Revue Francophone des laboratoires - Février 2015 - N°469. p 37-39.
-] **Midoun T. (2011).** Extraction des composés Phenoliques et étude leurs activités antioxydante par la voltamétrie cyclique, Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master. 53p.
-] **Mohamadi D. (2010).** Mode d'action des antibiotiques, Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire .Université Mohamed v-AGDAL.Faculté des Sciences B.P 1014-Rabat-MAROC. 3 p-5p
-] **Mohammed. et Nat Prod Chem Res (2017).** In vitro Antileishmanial Activity of *Helianthus annuus* and *Pulicaria crispa* (Asteraceae). 5-4.
-] **Mohammedi. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 169 p.
-] **Monnier M. et Denis F. (2007).** Les Cocci Gram positif. In Bactériologie Médicale. «Techniques usuelles » par Carbonnelle B. Denis F, Marmonier A., Pinon G.et Vargues R. Ed SIMEP-Paris. p105-116.
-] **Moreira M.R., Ponce A.G., Del Valle C.E. et Roura S.I. (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT. 38: 565-570.
-] **Monthana R.A.A et Lindequist U. (2005).** Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqatra. Journal of Ethnopharmacology. 96 : 177-181.
-] **Munyankindi V., et al. (2007).** Prescrire des antibiotiques dans les infections respiratoires la revue du praticien - médecine générale. tome 15. n° 532.
-] **Murray P.R. (2010).** Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: usefulness for taxonomy and epidemiology. Clin. Microbiol. Infect. 16:1626–1630.
-] **Nauciel C. (2000).** Bactériologie médicale. Ed Masson Paris. p55-96.
-] **Nauciel C. (2005).** Bactériologie médicale Ed. Masson Paris 5275: 83-233
-] **Nauciel C. et Vildé JL. (2005).** Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action. Edition : Masson. Paris .49-56p.
-] **Nawaz H., Shi J., Mittal G.S. et Kakuda Y. (2006).** Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. Separation and Purification Technologie. 48 : 176-181.

Références bibliographiques

- J **Ndorma O. (2004).** La résistance aux antibiotiques. Oscar S.VI-4 FSR Rabat AGDAL. 17-191.
- J **Negre R. (1962).** Petite flore des regions arides du Maroc oxydentales. Centre national de la recherche scientifique. Volume2 pp : 1961-1981
- J **Oiallo O. (1993).** Evaluation des mécanismes de résistance aux bêta-Lactamines et aminosides de souches dakaroise de staphylocoques et streptocoque Thèse Pharm, Dakar. 60 : 48.
- J **Ouelhadj A., Amel A., Sizine K. et Djenane D. (2014).** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* récolté en Algérie. *Revue de Microbiologie industriellr, sanitaire et Environnementale.*, 2 (8) :145-162
- J **Padilla E., Ruiz E., Redondo S., Gordillo-Moscoso A., Slowing K. et Tejerina, T. (2005).** Relationship between vasodilation capacity and phenolic content of Spanish wines *European Journal of Pharmacology*. 517: 84 – 91.
- J **Perre C. (2001).** Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*. Thèse de Doctorat .Université de Neuchâtel.Suisse. 184 p. 130.
- J **Perrone C., Galperine T. et al., (2005).** Antibiothérapie par voie générale en pratique courante dans les infections respiratoires hautes de l'adulte et enfant *Argumentaire. Médecine et maladies infectieuses* 35 (2005) 578–618.
- J **Perronne C. (1999).** Maladies infectieuses, Edition Lamarre Paris .volume 1. pp65.
- J **Pierre Aubry. et Bernard-Alex Gaüzère. (2018).** Programme de lutte contre les infections respiratoires aigue. Fondements techniques des recommandations de l'OMS relatives a la prise en charge de la pneumonie infantile dans les centres de santé de premier niveau. Document OMS ; WHO /RI/91,20.
- J **Plisson L. et al., (2013).** Laryngite chronique *EMC-oto-rhino-laryngologie* 2013 ; 8(4) :1-16 [Article20-645-C-10].
- J **Prescott., Harley. et Klein. (2007).** Microbiologie .2e édition française. P 806, 807,813, 819.
- J **Quezel P. et Santa S. (1963).** «Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales». Vol. II, p.949, CNRS. Paris.
- J **Ramoul A., Hammami S., Dekhil M., Amiri S., Slim A. et Boutiba-Ben Boubaker I. (2013).** Phenotypic and genotypic characterization of clinical multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* from Algerian intensive care units. *Afr.J.Microbiol.Res.* 7:868-874.

Références bibliographiques

-] **Raoult R. et Didier S. (2008).** «Le virophage : un virus capable d'infecter d'autres virus ». CNRS communiqué de presse.19-21. 6 aout 2008
-] **Rio Y., Pina P., Jurin F. et al., (2002).** Sensibilité de *P.aeruginosa* aux antibiotiques, isolés chez des malades de soins intensifs français en 1998.Phénotype de résistance aux bêtalactamines. Etude ESCRIM. Pathol Biol ; 50 : 12-17.
-] **Rira M. (2006).** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p.
-] **Roussel-Delvalle Z.M. (2001).** Bactérie multi- résistantes, doit-on rester optimiste? Feuille de biologie. Vol XXXXII, 238 p 9-12.
-] **Safdar M.N., Kausart T., Jabbar S., Mumtaz A., Ahad K. et Saddouzai A.N. (2017).** Extraction and quantification of polyphenols from Kinnow (*Citrus reticulata*) peel ultrasound and maceration techniques. *Journal of food and drug Analysis* 25: 488- 500.
-] **Sarker S.D., Latif Z. et Gray A.I. (2006).** Natural Products Isolation, Second Edition, Humana Press Inc.
-] **Scalbert A.et Williamson G. (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphénols. *Journal of Nutrition*. 130: 2073-2085.
-] **Scheftel J-M. (2010).** Les entérobactéries Bactériologie médicale et vétérinaire : Systématique bactérienne. Doins Paris 2é édition : 109-187.
-] **Seng P., Rolain J.M., Fournier P.E., La scola B. et Drancourt M. (2010).** MALDI-TOF- Mass spectrometry applications in clinical microbiology. *Future. Microbiol.* 5: 1733–1754.
-] **Singleton P. (2005).** Bactériologie pour la médecine, la biologie et la bactériologie. Edition : Durot .Paris. 100-102p.
-] **Soussy C.J. (2007).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. p 21-46.
-] **Spigno G., Tramelli L. et De Faveri D.M. (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*. 81: 200-208.
-] **Stalikas C.D. (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids Review. *J. Sep. Sci.* 30 :3268 – 3295

Références bibliographiques

- J **Stansfield S.K. (1987).** Acute respiratory infections in the developing world: strategies for prevention, treatment and control. *Pediatr Infect Dis J.* 1987(Jul); 6(7):622-9.
- J **Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L. et Zhang Y. (2011).** Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem Toxicol.* 49: 2689-2696.
- J **Sutradhar R.K., Rahman A.K.M.M., Ahmad M.U. et Bachar S.C. (2008).** Bioactive flavones of *Sida cordifolia*. *Phytochemistry Letters.* 1 : 179–182.
- J **Targant H. (2012).** L'ilot de multi résistance aux antibiotiques, *Salmonella Genomic Island 1 (SGI1)* : variabilité, diffusion inter -espèces et implication dans la virulence thèse de doctorat en Sciences de la Vie et de la Santé ; universite claudes bernard LYON 1. p : 19.
- J **Taytard A. (2006).** Infections respiratoires basses (IRB) Association loi de 1901 reconnu. www.afssaps.sante.fr, Dernière mise à jour du site le 27/10/2014.
- J **Ulanowska K., Traczyk A., Konopa G. et Wegrzym G. (2006).** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol.* Vol 184 (5): 271-278.
- J **Vafeiadou K., Vauzour D., Lee H.Y., Rodriguez-Mateos A., Williams R.J. et Spencer J.P.E. (2009).** The citrus flavanone naringenin inhibits inflammatory signalling in glial cells and protects against neuroinflammatory injury *Archives of Biochemistry and Biophysics* doi:10.1016/j.abb.2009.01.016.
- J **V-G de Billerbeck. (2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques, *phytothérapie* Vol 5. Pp 249-253.
- J **Vuong Q.V., Hirun S., Paul Droach., Michael C Bowyer., Phoebe A., Phillips and Christopher J. et Scarlett. (2013).** Effect of extraction condition on total phenolic compound and antioxidant activities of *Caricapapaya* leaf aqueous extracts, *journal of herbal medicine.* 3:104–111.
- J **Wareham D.W et Wilson P. (2002).** Antibiotic prescribing for acute respiratory tract infections in primary care: a systematic review and metaethnography. *J Antimicrob Chemother*; 66(10):2215-23.
- J **Wendpoulomdé A.D.K. et al., (2016).** Détection d'*Acinetobacter baumannii*, agent pathogène opportuniste et multirésistant dans les infections bucco-dentaires à Ouagadougou, Burkina Faso.

Références bibliographiques

-) **Wissam Z., Ghada B., Wassim A. et Warid K. (2012).** Effective extraction of polyphenols and proanthocyanidine from pomegranate's peel. International journal of pharmacy and pharmaceutical Sciences.4 (3): 675-682.
-) **Wolff M., Joly-Guillou M.L. et Pajot O. (2009).** Les carbapénèmases. Comparative review of carbapenemes. Reanimation 18: S199-S208.
-) **Wollgast J. et Anklam E., (2000).** Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. Food Research International. 33 : 423 – 447.
-) **Wong J.C., Anderson A., Graham G.M., CHU M.C., Sauer M.V., Guarnaccia M.M. et Lobo R.A. (2007).** The effect of cinnamon extract on insulin resistance parameters in polycystic ovary syndrome: a pilote study. Fertil Steril. 88(1): 240-243
-) **Xavier .A et al ., (2011).** Prevalence and resistance mechanisms of common bacterial respiratory pathogens. Clin Infect Dis ; 18:951-7.
-) **Yala D., Merad A-S, Mohameddi D. et Ooar Korich M.N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. Ed Médecine du Maghreb. 91 :1.
-) **Yapo T. et al (2016).** Maladies infectieuses tropicale. Edition Alinéa plus. p 204-215.
-) **Yasmin Hassan Elshiekh., Mona A. et Abdel Moniem. (2015).** Phytochemical, Antibacterial Screening And Antioxidant Activity of *Pulicaia crista* Extracts. 3(12): 12-15.
-) **Zahoun A., Dao I., Karfo R., Essayagh T., Sekhsokh Y., Bousta M. et Elhamzaoui S. (2010).** Méningite nosocomiale postopératoire à *Acinetobacter baumannii* multirésistant en neurochirurgie à propos d'un cas nosocomial. Pathologie Biologie. 29-31.

Annexe 1 : matériel utilisés

1. Appareillage

Les appareils utilisés sont les suivants :

- L'autoclave.
- Le bain-marie.
- Balance de précision à 0,01 mg et balance.
- Spectrophotomètre visible.
- Rotavapeur.
- Etuve.
- Vortex.
- Agitateur a barreaux magnétique non chauffant.
- Agitateur à chaud.
- Broyeur électrique.
- Réfrigérateur.
- L'hôte.
- Vitek.
- Plaque chauffante.

2. La verrerie et autres matériels

- Le bec bunsen.
- Flacons.
- Pipettes pasteurs.
- Béchers.
- Erlen Meyers.
- Fiole.
- Entonnoir.
- Eprouvette.
- Spatules
- Tubes à essai
- Micropipettes 10, 50, 100, 500, 1000 µl.
- Embouts.

- Ecouvillons
- Boîtes de pétrie
- Portoirs.
- Filtre (tissu Mousseline).
- Papier wattman.
- Cuves.
- Anse.
- Lames et lamelles.
- Pince.
- Disques vides stériles.
- Pied à coulisses.

Annexe 2 : Composition des milieux de culture utilisés

➤ Milieux liquides

) Eau physiologique stérile (Composition en g/l)

Chlorure de sodium (NaCl)9g

Eau distillé..... 1000ml

pH = 7

Préparation : 9g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 112° C pendant 15min

➤ Milieux solides

) Muller Hinton (composition en g/l)

Infusion de viande de bœuf déshydratée300g

Hydrolysate de caséine17.5g

Amidon de maïs1,5g

Agar-agar17g

Eau distillée1000ml

Annexes

pH final7,3 $\pm$ 0.1 à 25°C

Préparation : 38g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 121° C pendant 15 min

) **Gélose nutritive** (composition en g/l)

Extrait de viande.....1,5g

Extrait de levure.....1, 5g

Digestion peptique du tissu animale.....5g

NaCl.....5g

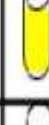
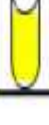
Agar.....1, 5g

pH = 7,4 $\pm$ 0,2

Préparation : 28g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15min

Annexes

Annexe 3 : Tableau de lecture de galerie API 20^E.

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat:	Caractère recherché:	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Beta galactosidase		Lecture directe		
ADIH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de Phénol	Lecture directe		
(CIT)	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S		Lecture directe		
URF	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif chlorure de fer III		
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif Kovacs	 	 
(VP)	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de VP1 et VP2 Attendre 10 minutes		 
(GEL)	Géatine	gélatinase		Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ ⁻ / N ₂	Nitrates (NO ₃ ⁻)	Nitrate réductase		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de NT1 et NT2 et zinc éventuellement		

Annexes

Annexe 4 : Résultat d'antibiogramme réalisé par le Vitek de *Pseudomonas aeruginosa* .

CHU Nadir Mohamed TIZI OUZOU

N° Client bioMérieux : Rapport du laboratoire Imprimé le 03 mars 2019 16:05 GMT+01:00

Nom du patient : ANKACHE MASSINISSA ID du patient : 2891/19
 Lieu : HEMATO Médecin :
 ID labo : 2891/19 Numéro d'isolat : 1

Nucléation :
 Germe sélectionné : *Pseudomonas aeruginosa*

Source : CRL Prélèvement :

Commentaires :

Informations sur l'identification	Heure de l'analyse :	7,00 heures	État :	Final
Germe sélectionné	99% Probabilité	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	Profil biochimique :	00430510035C0252		
Commentaires sur l'ident.				

Résultats Antibiotogramme		Heure de l'analyse :		14,75 heures		État :		Final	
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation				
Ticarcilline	32	S	Amikacine	<= 2	S				
Ticarcilline/acide clavulanique	16	S	Gentamicine	<= 1	S				
Pipéracilline	8	S	Tobramycine	<= 1	S				
Pipéracilline/tazobactam	8	S	Ciprofloxacine	<= 0,25	S				
Ceftazidime	4	S	Péfloxacine	1	S				
Céfépime	<= 1	S	Minocycline	8	*R				
Aztreonam			Colistine	<= 0,5	S				
Imipénème	>= 16	R	Rifampicine						
Méropénème	4	I	Triméthoprim/sulfaméthoxazole	80	R				

*= Médicament déduit **= Modification AES ***= Modification Utilisateur

Résultats AES			
Fiabilité :	Concordant		
Phénotypes à vérifier :	BÉTA-LACTAMINES	RÉSISTANT AUX CARBAPÉNÈMES (IMPERMÉABLE)	

Annexes

Annexe 5 : Résultats d'antibiotique réalisé par le Vitek d'*Enterobacter cloacae*

V. Client biomérieux : CHL Nedir Mohamed TIZI DOZOU
Rapport du laboratoire Imprimé 23 mars 2019 14:56 GMT+01:00

Nom du patient : MEGHOULI FATMA
Lieu : MEMATO
ID labo : 309719
ID du patient : 349719
Médicine :
Numéro d'isolat : 1

Numération :
Germes sélectionnés : *Enterobacter cloacae* ssp *cloacae*

Strain : 3

Prélevé :

Commentaires :

Résultats sur l'identification	Heure de l'analyse : 4,75 heures	État : Final
Germes sélectionnés	96% Probabilité : <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>cloacae</i> Profil biochimique : 0627634753133010	
Commentaires sur l'ident.		

Résultats Antibiotogramme			Heure de l'analyse : 9,25 heures	État : Final	
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ampicilline			Imipénème	<= 0,25	S
Amoxicilline/acide clavulanique	>= 32	R	Amikacine	<= 2	S
Cefazolin	<= 3	S	Gentamicine	<= 1	S
Cefotaxime/azotectam	<= 4	S	Tobramycine	<= 1	S
Cefepime	16	*R	Acide nélicoxique	<= 2	S
Ceftriaxone	<= 4	*R	Ciprofloxacine	<= 0,25	S
Cefuroxime	<= 1	S	Cifloxacine	<= 0,25	S
Colistine	<= 1	S	Nitrofurantoin	34	I
Clarithromycine	<= 1	S	Triméthoprime/sulfaméthoxazole	<= 20	S
Ertapénème	<= 0,5	S			

* = Médicament déduit ** = Modification AES *** = Modification Utilisateur

Résultats AES

Fiabilité : Concordant

Annexes

Annexe 6 : Résultat d'antibiotique réalisé par le Vitek de *Klebsiella pneumoniae*

N° Client: bioMérieux
 CHU Nedr Mohamed T.ZI OUZCU
 Rapport du laboratoire
 Imprimé le 21 mars 2019 15:23 GMT+01:00

Nom du patient: BENMOUSSA RYMA
 Lieu: HEMATO
 ID labo: 3752/19
 ID du patient: 3752/19
 Numéro de patient: 3752/19

Numeration:
 Germe sélectionné: *Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumoniae*
 Source: PG
 Prélève:

Commentaires:

Informations sur l'identification	Heure de l'analyse:	4 07 heures	État	Final
Germe sélectionné	CO% Probabilité:	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp <i>pneumoniae</i>		
Commentaires sur l'ident.	Profil biochimique:	66077347/3165010		

Résultats AntibioGramme	Heure de l'analyse:	9,00 heures	État	Final	
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ampicilline	>= 32	R	Imipénème	0,25	S
Amoxicilline/acide clavulanique	4	S	Amikacine	<= 2	S
Ticarcilline	>= 128	R	Gentamicine	<= 1	S
Piperacilline/tazobactam	<= 4	S	Tobramycine	<= 1	S
Céfalexime	>= 64	R	Acide nalidixique	4*	*R
Céfotaxime	<= 4	S	Ciprofloxacine	0,5	S
Céfotaxime	>= 64	R	Ofloxacine	2	S
Ceftazidime	4	*R	Nitrofurantoïne	64	I
Ertapénème	<= 0,5	S	Triméthopime/sulfaméthoxazole	>= 320	R

+ = Médicament déduit * = Modification AES ** = Modification Utilisateur

Résultats AES	
Fabilité:	Concordant après correction
Phénotypes à vérifier:	BÉTA-LACTAMINES BÉTA-LACTAMASE À SPECTRE ÉTENDU