



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

Université Abbès Laghrour Khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master académique en
Biologie
Option : Microbiologie

Thème



Présenté par :

FERROUDJ Besma et BAGHLACHE Noura

Devant le Jury

Président : M. HABIBATENI S. (MAA) Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Promotrice: M^{emc} KHEDDOUMA A. (MAA) Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Examinatrice: M^{emc} DEROUCHE F. (MAA) Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Année Universitaire : 2014-2015

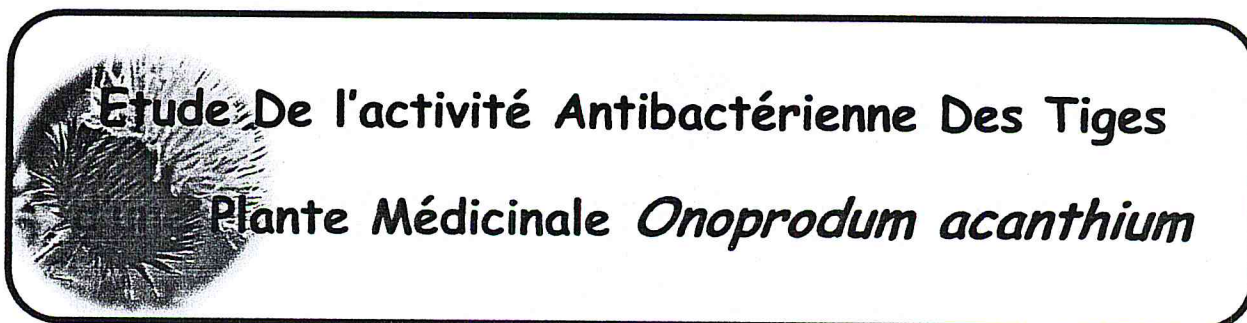


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Abbès Laghrou Khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master académique en
Biologie
Option : Microbiologie

Thème



Présenté par :

FERROUDJ Besma et BAGHLACHE Noura

Devant le Jury

Président : M. HABIBATENI S.	(MAA) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela
Promotrice: M ^{eme} KHEDDOUMA A.	(MAA) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela
Examinatrice: M ^{eme} DEROUCHE F.	(MAA) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela

Année Universitaire : 2014-2015

Remerciements

Ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de microbiologie, faculté de science de la nature et de la vie, Université de KHENCHÉLA

En premier lieu, Nous tenons à remercier avant tout "ALLAH" de nous avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Nous remercions d'abord le président de jury, M. HABIBATÉNI Sofiane pour sa patience, sa compréhension et son aide.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à l'examinatrice M^{me} DEROUICH d'avoir accepté de nous prêter son attention et d'évaluer notre travail.

Nous remercions notre promotrice de mémoire, M^{me} KHEDDOUMA Asma, pour sa générosité, sa gentillesse, son encouragement, son soutien et de nous avoir fait confiance tout au long de la préparation de ce travail.

Nous remercions aussi M^{elle} CHORFI Kaltoum pour son aide.

Un grand merci que nous adressons à tous les membres de laboratoires pédagogiques de l'université d'ABBES LAGHROUR - KHENCHÉLA, spécialement la responsable des laboratoires M^{me} CHORFI Rafika pour sa gentillesse et ses conseils, aussi M^{me} BOURMADA Madjida qui a été toujours présente à nos côtés.

Finalement, nous remercions toute personne ayant contribué de près ou du loin à la réalisation de ce travail.



Je dédie mon travail

A mes parents sans lesquels je ne serais pas devenue ce que je suis, pour leur patience à toute épreuve, pour leur écoute, leur conseils inestimables, pour les longues heures passées à mes cotés, tout simplement pour leur amour.

A ma grande mère Djamila qui était toujours présente à mes cotés moments les plus importants de mon existence avec ses prières.

A mes sœurs Fatima, Rabia et Mariem.

A mon frère Mouhamed.

A toute ma famille et tous leurs enfants.

BESMA



Je dédie mon travail

A mes parents sans lesquels je ne serais pas devenue ce que je suis, pour leur patience à toute épreuve, pour leur écoute, leur conseils inestimables, pour les longues heures passées à mes cotés, tout simplement pour leur amour.

A mes sœurs Samira, Wahiba, Zineb et Zahia.

A mes frères Hakim et Bilal.

A toute ma famille et tous leurs enfants.

NOURA

Etude Bibliographique

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
I. Le monde bactérien	3
I.1. Généralité sur la cellule bactérienne	3
I.1.1. La structure interne	3
I.1.1.1. Le matériel nucléaire	3
I.1.1.2. Les plasmide	3
I.1.1.3. Le cytoplasme	4
I.1.2. La structure externe	4
I.1.2.1. La membrane plasmique	4
I.1.2.2. La paroi bactérienne	4
I.1.2.3. Flagelles et pili	6
I.2. Phénomène de sporulation	7
I.3. La physiologie bactérienne	7
I.3.1. Nutrition bactérienne	7
I.3.2. La croissance bactérienne	8
II. Les antibiotiques	10
II.2. Définition	10
II.3. Mode d'action des antibiotiques	12
II.3.1. Action sur la paroi bactérienne	12
II.3.2. Action sur la membrane cellulaire	12
II.3.3. Action sur l'ADN	13
II.3.4. Action sur la synthèse protéique	14
II.4. La classification des antibiotiques	14
II.4.1. Selon leurs mécanismes	14
II.4.1.1. Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane	14
II.4.1.1.1. Les β lactames	14
II.4.1.1.2. Les Glycopeptides et les fosfomycine	17
II.4.1.2. Les antibiotiques inhibiteur de la synthèse des protéines	18
II.4.1.3. Les antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires	20
II.4.1.4. les antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques	21

II.4.1.2. Selon l'activité antibactérienne	23
II.4.2.1.2. Les antibiotiques bactériostatiques	23
II.5. La résistance aux antibiotiques	23
II.5.1. La résistance naturelle	24
II.5.2. La résistance acquise	24
III. L'aromathérapie	25
III.1. Historique	25
III.2. Définition	26
III.3. Les huiles essentielles	26
III.4. Méthodes d'obtention des huiles essentielles	27
III.4.1. La distillation à la vapeur d'eau	27
III.4.2. L'expression à froid	28
III.4.3. Dans L'infusion	29
III.4.4. L'extraction par solvants	29
III.4.5. L'enfleurag	31
III.4.5. L'enfleurag	31
III.5.1. La voie orale	31
III.5.2. La voie olfactive	31
III.5.3. La voie cutanée	31
III.5.4. Autres voies	33
IV. Généralités sur <i>Onopordum acanthium</i>	34
IV.1. Description	34
IV.1.1. Tiges et feuilles	34
IV.1.2. Fleurs et fruits	35
IV.2. Distribution	36
IV.3. Les impacts généraux	37
IV.4. La reproduction	37
IV.5. L'utilisation	38
IV.6. L'activité antibactérienne	38
IV.7. La classification	38

Matériel et méthodes

I. Le matériel végétal	39
II.L'extraction	39
III.L'activité antibactérienne	40
III.1.Les souches bactériennes testées	40
III.1.1.La souche « S ₁ & S ₃ » <i>Staphylococcus aureus</i>	41
III.1.2.La souche « S ₂ » <i>Escherichia coli</i>	41
III.1.3.La souche « S ₄ » <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
III.1.4.La souche « S ₅ » <i>Proteus mirabilis</i>	42
III.1.5.La souche « S ₆ » <i>Salmonella</i>	42
III.2.Préparation de l'inoculum	42
III.2.1.Préparation de la pré-culture	42
III.2.2.Préparation de la suspension bactérienne	43
III.2.3.L'ensemencement bactérien (préparation des tapis bactériens)	43
III.3.Préparation des doses de l'extrait	44
III.4.Préparation des disques d'aromatogramme	44
Résultats et Discussion	
I.L'extraction	46
II.L'activité antibactérienne	46
II.1.L'utilisation du méthanol comme solvant	47
II.1.1.L'utilisation de 0,1g/ml de l'extrait	48
II.1.2.L'utilisation de 0,2g/ml de l'extrait	49
II.2.L'utilisation du DMSO comme solvant	50
II.2.1.Le test de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les souches à Gram négatif	51
II.2.2.Le test de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les souches à Gram positif	52
Conclusion	55
Les références bibliographiques	

N°	TITRE	PAGE
01	La structure d'une cellule procaryote (bactéries)	3
02	La membrane plasmique	4
03	La paroi des bactéries à gram positif	5
04	la paroi des bactéries à gram négatif	6
05	Phénomène de sporulation	7
06	Courbe de croissance bactérienne	8
07	Découverte et premières utilisations cliniques des principaux antibiotiques d'origine naturelle et d'origine synthétique.	11
08	Mode d'action des antibiotiques.	12
09	Les principaux antibiotiques inhibiteurs de synthèses protéiques	18
10	Principaux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates	21
11	Les différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries	24
12	Distillation à la vapeur de l'essence végétale	28
13	Structure des citrus	28
14	Structure du système limbique	30
15	<i>L'Onopordum acanthium</i> ou chardon aux ânes	34
16	Les tiges et feuilles de <i>l'Onopordum acanthium</i>	35
17	Fleurs (a,b) et fruits (c,d) de <i>l'Onopordum acanthium</i>	36
18	La zone d'inhibition de l'extrait de <i>O. acanthium</i> pour <i>S. epidermidis</i> (A) et <i>M. luteus</i> (B)	38
19	Photographie du Rotavapeur (Laboratoire SNV Université Khenchela)	39
20	Protocole de préparation de l'extrait méthanolique de la partie aérienne par macération	40
21	Repiquage des souches bactériennes à la surface de la gélose nutritive	42
22	La préparation de la suspension bactérienne.	43
23	L'ensemencement de la suspension bactérienne.	43
24	Les étapes d'application des disques.	45
25	L'aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné de l'extrait végétale	45

Liste des figures

26	Photographie de l'extrait méthanolique	46
27	La sensibilité des souches testées par 0,1g/ml de l'extrait méthanolique	47
28	La sensibilité des souches testées par (0,2g/ml) de l'extrait méthanolique	49
29	La sensibilité des souches à Gram négatif; testées par 0,2g/ml de l'extrait méthanolique.	51
30	La sensibilité des souches à Gram positif ; testées par 0,2g/ml de l'extrait méthanolique.	53

Liste des tableaux

N°	TITRE	PAGE
01	Mode d'action des principales classes d'antibiotiques	13
02	Les sous-groupes de Pénames	15
03	Les sous-groupes de Céphèmes	16
04	Les sous-groupes de Carbapénèmes, oxapénames et monobactames	17
05	Les groupes de Glycopeptides et fosfomycine	17
06	Les inhibiteurs de la synthèse des protéines	19
07	Les antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires	21
08	Les inhibiteurs des acides nucléiques	22
09	Posologies de la voie olfactive chez l'adulte et l'enfant de plus de 7 ans	31
10	Posologie de la voie cutanée chez l'adulte et l'enfant de plus de 7 ans	32
11	Les références des souches bactériennes testées	38
12	Les différentes doses préparées pour chaque solvant	41
13	Résultats des diamètres moyens de la zone d'inhibition de l'extrait méthanolique dessous dans le méthanol.	48
14	Résultats des diamètres moyens de la zone d'inhibition de l'extrait méthanolique dessous dans le DMSO.	50

Introduction

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture, par la suite s'est développé pour les utiliser comme médicaments et remèdes à la fin de soigner les différentes maladies. Jusqu'à maintenant les plantes sont encore destinées à la santé humaine malgré les efforts des chimistes, qui essayent de synthétiser de nouvelles molécules. D'après les études statistiques plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes. [57]

Les biologistes et les chimistes reconnaissent l'importance majeure des produits naturels et les limites des méthodes et des techniques de biotechnologie ainsi que la chimie, ce qui peut expliquer le grand intérêt porté à la recherche de composés issus des sources naturelles. Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Onopordum*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions humides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques.

Certaines espèces d'*Onopordum* sont utilisées dans la médecine traditionnelle. Par exemple, les fruits d'*O. tauricum* sont pour traiter les maladies du foie. Les branches fleuries d'*O. acanthium* sont utilisés comme diurétique et antipyrétique et les racines sont utilisées comme diurétique, et pour traiter les maux d'estomac. Plusieurs espèces de ce genre font objet des études de l'activité antimicrobienne et l'activité antioxydante. [60]

Parmi les espèces les plus connues de ce genre, se trouve *Onopordum acanthium*; cette plante largement utilisée pour traiter les cancers et les ulcères et de diminuer les rejets de médicaments.

Ce travail consiste à étudier l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des tiges de l'*Onopordum acanthium*, appartenant à la famille des *Asteraceae*; visé à vis six souches bactériennes différentes, dont quatre sont à Gram négatif et deux à Gram positif.

Notre travail est organisé en trois parties essentielles:

Une première partie englobe l'étude bibliographique où seront rappelées des généralités sur le monde bactérien, les antibiotiques, l'aromathérapie et des généralités sur la plante (*Onopordum acanthium*).

La deuxième partie, illustre le matériel et les méthodes utilisées dans le cadre de cette étude. Alors que le troisième volet regroupe les résultats obtenus et la discussion de ces résultats en les comparant avec d'autres études dans le même axe.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale qui résume les perspectives.

Chapitre I
Étude bibliographique

I. Le monde bactérien

I.1. Généralité sur la cellule bactérienne

Les bactéries sont des cellules relativement simples, caractérisées par l'absence de noyau et d'organites comme les mitochondries et les chloroplastes [1].

La figure 1 ci-après représente la structure d'une cellule bactérienne.

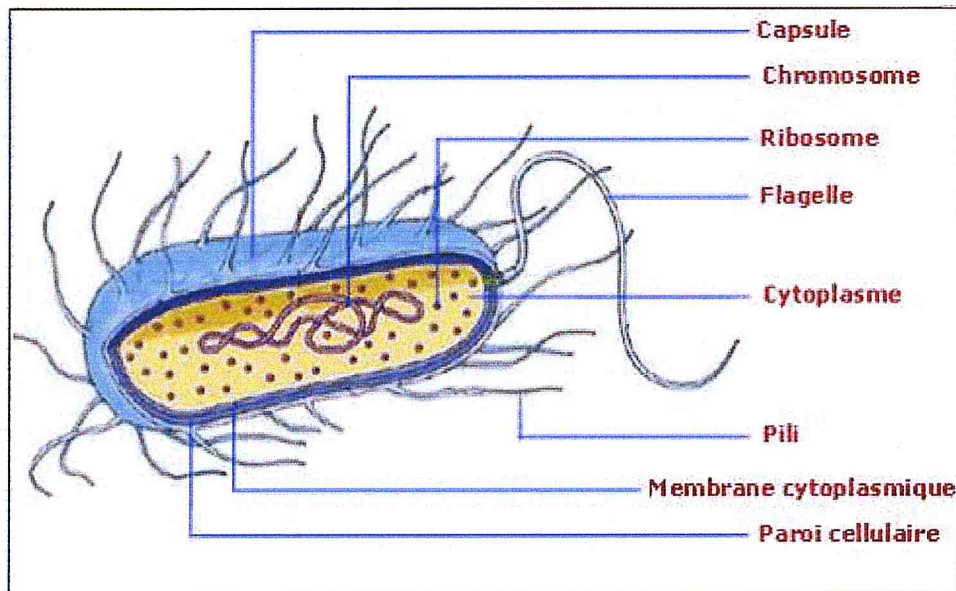


Figure 1. la structure d'une cellule procaryote (bactéries) [5].

I. 1.1. La structure interne

Les bactéries sont caractérisés par plusieurs éléments dont les uns sont facultatifs dits interne tel que les plasmides, le matériel nucléaire et le cytoplasme [1,3].

I.1.1.1. Le matériel nucléaire

Les cellules procaryotes ne possèdent pas de noyau mais possèdent du matériel nucléaire sous forme d'un chromosome unique, circulaire, d'une longueur voisine de 1 mm. Ce chromosome est constitué d'un filament hélicoïdal d'acide désoxyribonucléique (ADN) bicaténaire [2].

I.1.1.2. Les plasmides

Les plasmides sont de petits éléments circulaires constituant du matériel génétique extra-chromosomique. Ils sont faits d'ADN et portent, comme le chromosome, des informations génétiques. Ils sont autonomes et capables de se répliquer indépendamment du chromosome. Ces plasmides sont transmissibles à d'autres bactéries [2].

I.1.1.3. Le cytoplasme

Il contient essentiellement les ribosomes qui assurent les synthèses protéiques en traduisant le ARNm, ils sont en étroit contact avec le matériel nucléaire, on constate que les ribosomes des bactéries sont différents des ribosomes des eucaryotes [3].

I.1.2. La structure externe

Les bactéries sont caractérisés par d'autres éléments sont externe ou constante comme la paroi, la membrane plasmique, les flagelles et les pilis [1].

I.1.2.1. La membrane plasmique

La membrane plasmique entoure le cytoplasme, elle a la structure lipidoprotidique. Les molécules qui la constituent sont mobiles et « flottent » dans son épaisseur qui lui donne une grande plasticité [3].

La membrane est la cible des antibiotiques polypeptidiques, elle contrôle donc les entrées et sorties de la cellule .

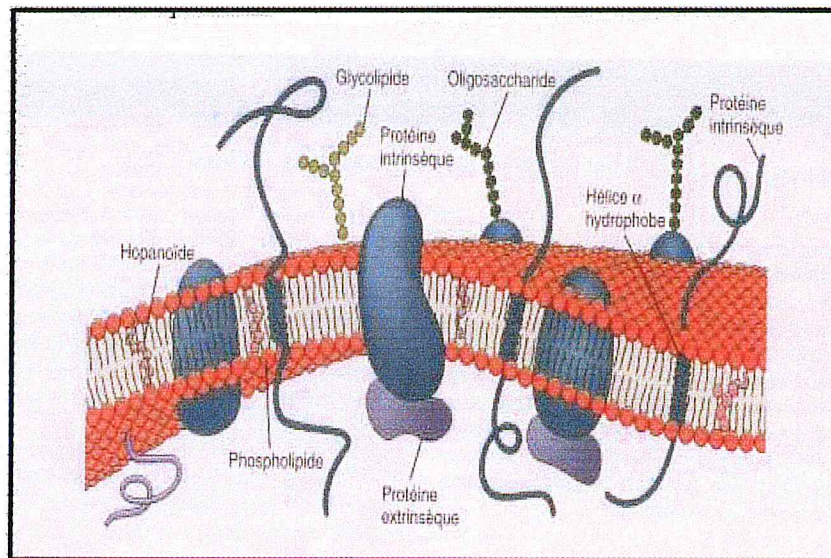


Figure 2. La membrane plasmique [5].

I.1.2.2. La paroi bactérienne

La paroi cellulaire est l'une des caractéristiques importantes des bactéries. Elle donne à la bactérie sa forme et la protège contre l'éclatement sous l'effet de la pression osmotique du cytoplasme.

La paroi joue un rôle essentiel dans la division cellulaire tout en servant de vecteur primaire à sa propre biosynthèse. La paroi représente 20% du poids sec de la cellule

bactérienne. Quelques bactéries synthétisent des polymères organiques qui se déposent en une couche plus ou moins épaisse et visqueuse au-dessus de la paroi (on appelle cette couche capsule).

Les composés organiques externes (polysaccharides, protéines) vont permettre à la bactérie d'interagir avec l'environnement et notamment avec les surfaces [4].

On classe les bactéries en deux groupes principaux selon leurs réactions à la coloration de Gram qui proviennent des différences essentielles de la structure des parois cellulaires :

- **Bactéries à Gram positif « paroi épaisses et denses »**

Les bactérie Gram positif protègent leur membrane avec une paroi épaisse. Sa composition majeure est d'un polymère complexe de sucres et d'acides aminés, appelé muréine ou peptidoglycane qui donne à la bactérie sa forme et sa rigidité.

Les acides technoïque représentent le deuxième composant essentiel de la paroi des bactéries Gram positif il constituent jusque 50% du poids sec de la paroi et 10% du poids sec de la cellule totale, ce sont des polymères constitués d'unités glycérol-phosphate dans lesquelles le glycérol ou le ribitol sont associés à des sucres comme le glucose, le galactose ou la N-acétylglucosamine. Ils contiennent souvent de grandes quantités de D- alanine attachée au glycérol. La paroi des bactéries Gram positif tellement épaisse qu'elle empêche le passage de composés hydrophobes [5].

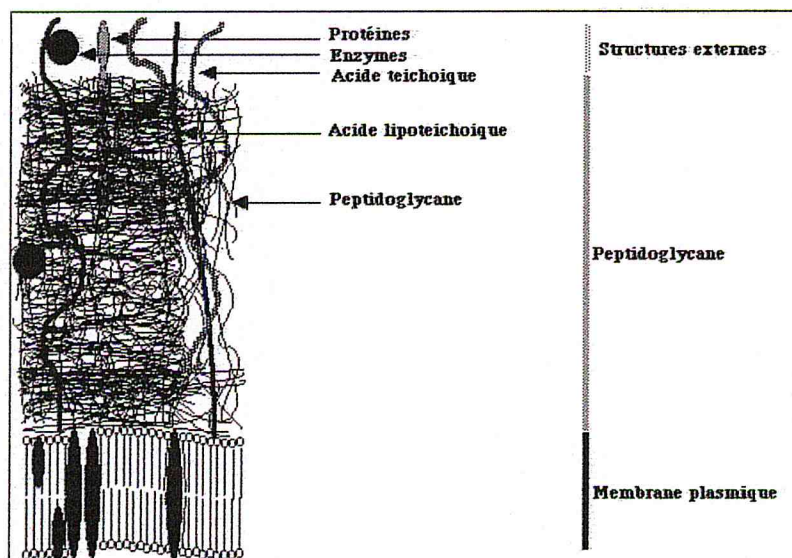


Figure 3. La paroi des bactéries à gram positif [5].

- **Bactérie à Gram négatif « paroi fine »**

Outre le peptidoglycane de base, elle comprend trois autres structures polymériques externes reliées à ce peptidoglycane.

- Une couche phospholipidique dite « membrane externe »
- Un lipopolysaccharide (LPS).
- Une lipoprotéine assurant la liaison entre la membrane externe et le peptidoglycane et conférant une certaine solidité à l'ensemble [6].

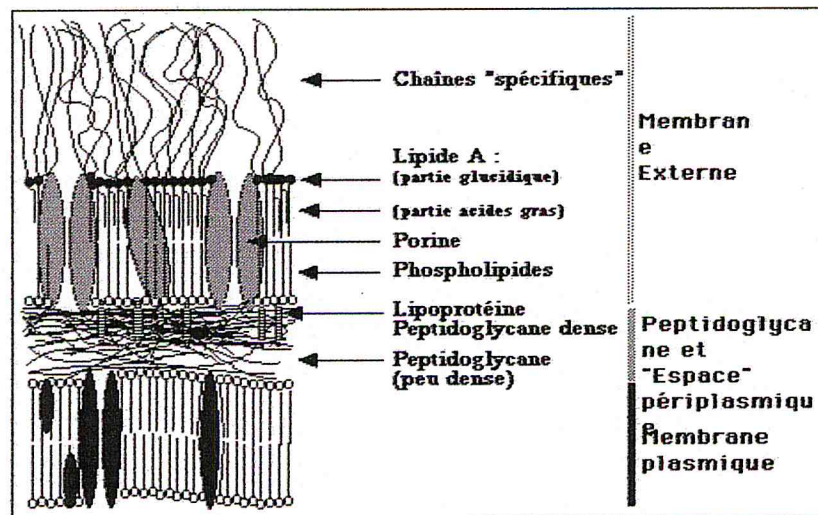


Figure 4. la paroi des bactéries à gram négatif [5].

I.1.2.3. Flagelles et pili

Les flagelles sont des appendices extracellulaires constitués de flagelline ancrée sur un corps basal dont la structure dépend du type de paroi du micro-organisme. Leur longueur est variable et peut atteindre jusqu'à dix fois le diamètre de la cellule bactérienne. Les flagelles permettent à la bactérie de se mouvoir dans son environnement et donc de se déplacer vers des milieux où les conditions sont plus favorables. La disposition des flagelles peut être polaire (à une extrémité), amphitriche (aux deux extrémités) ou péritriche (tout autour de la bactérie). Les bactéries à flagellation polaire et amphitriche peuvent encore se subdiviser en bactéries monotriches (un seul flagelle à chaque point d'ancrage) et en bactéries lophotriches (une touffe de flagelles) [7].

Les pili ou fimbriae sont des appendices extracellulaires plus minces et plus petits que les flagelles. Ils sont constitués de piline (protéine) et sont ancrés dans la membrane cytoplasmique. Deux types de pili sont à ce jour décrits, les pili communs qui ont un rôle dans

l'adhésion des bactéries et les pili sexuels dont le rôle est le transfert génétique d'ADN au cours de la conjugaison [8].

I. 1.2. Phénomène de sporulation

Lorsqu'on place les bactéries dans des conditions défavorables de survie, pour certaines d'entre elles (bacilles Gram + *Bacillus* et *Clostridium*) il y a formation de spores (c'est la sporulation). Si on place des spores dans des conditions favorables, elles retournent à l'état de bactéries végétatives (c'est la germination).

La spore contient, sous forme condensée, le génome et une partie du cytoplasme déshydraté autour d'une enveloppe très résistante. On peut observer au microscope les spores en voie de formation dans les corps bactériens. La situation de la spore est caractéristique de l'espèce. Les spores constituent une forme de résistance des bactéries et sont la cause de certaines contaminations d'origine tellurique (tétanos, charbon) [8].

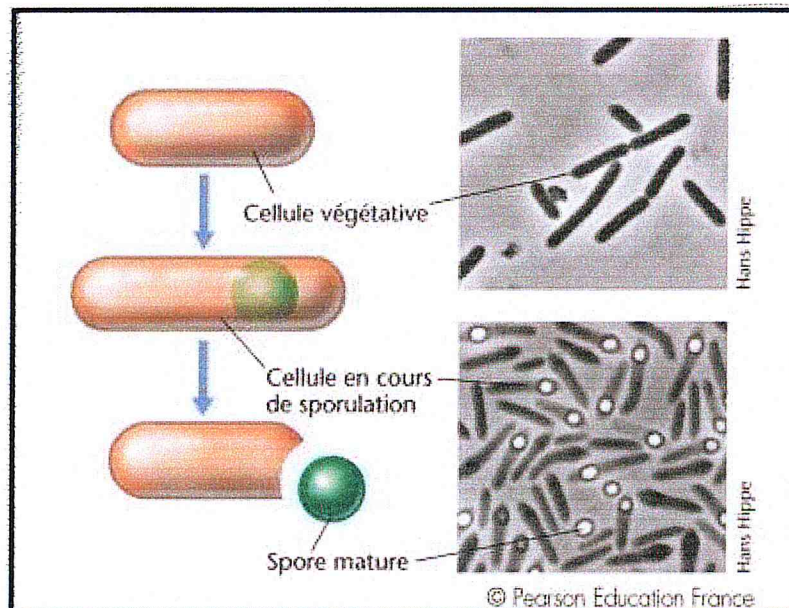


Figure 5. phynomène de sporulation [8].

I.1.3. La physiologie bactérienne

I.1.3.1. Nutrition bactérienne

Comme tous les êtres vivants, les micro-organismes se nourrissent des substances minérales et organiques se trouvant dans l'environnement. Ces substances sont nécessaires à la synthèse des constituants cellulaires assurant ainsi la croissance et la multiplication [9].

Certains éléments sont nécessaires à la croissance des micro-organismes tel que :

- Le carbone qui peut être d'origine organique (bactéries hétérotrophes) ou provenir du CO_2 (bactéries autotrophes).
- L'azote dont l'origine peut être variée. Certaines bactéries sont capables d'assimiler l'ammoniac, les nitrates, l'azote atmosphérique et d'autres vont assimiler des acides aminés.
- Le phosphate et le soufre nécessaires aux bactéries pour synthétiser respectivement les acides nucléiques et les acides aminés soufrés sont principalement d'origine inorganique [9].
- Les facteurs de croissance sont des composés organiques non synthétiser mais qui sont indispensables pour certaines souches bactériennes et qui sont : les acides-aminés, les bases et les vitamines [6].

I.1.3.2. Croissance bactérienne

La croissance bactérienne est l'accroissement ordonné de tous les composants de la bactérie qui aboutit à l'augmentation du nombre de bactéries. La croissance et le métabolisme des bactéries sont propres à chaque genre bactérien, permettant ainsi de les différencier [10].

Au cours de la croissance qui peut être étudiée en milieu liquide ou solide, il se produit, d'une part, un appauvrissement du milieu de culture en nutriments et d'autre part, un enrichissement en sous- produits du métabolisme, éventuellement toxiques.

la croissance d'une bactérie s'étudie en milieu liquide en 5 phases qui dont l'ensemble constitue la courbe de croissance, comme le montre la figure 6.

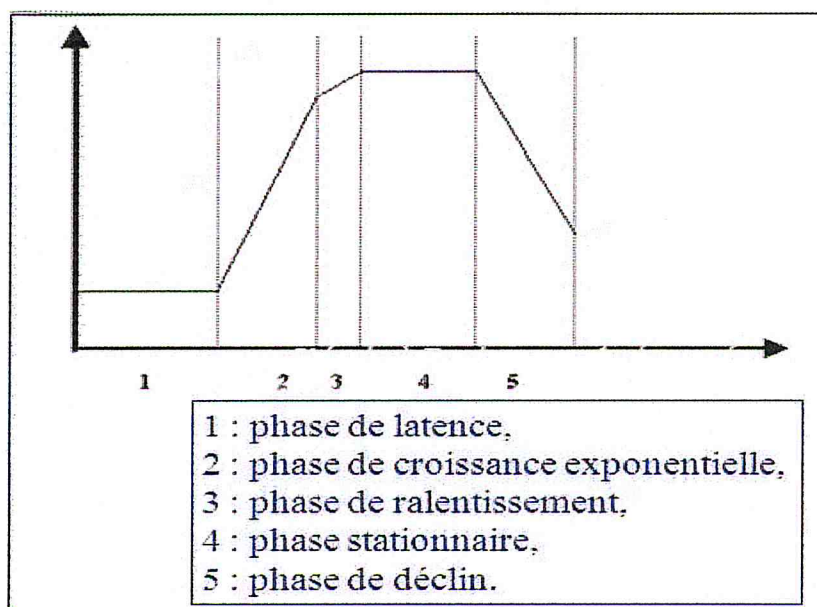


Figure 6. Courbe de croissance bactérienne. [10]

a) **Phase de latence** : C'est le temps nécessaire à la bactérie pour synthétiser les enzymes adaptées au nouveau substrat ou le taux de croissance nul ($u = 0$) et la durée de cette phase dépend de l'âge des bactéries et de la composition du milieu.

b) **Phase de Croissance exponentielle** : C'est Le temps de doublement des bactéries est le plus court la masse cellulaire est représentée par des cellules viables (mortalité nulle) et le taux de croissance atteint un maximum ($u = \max$), cette phase dure tant que la vitesse de croissance est constante.

c) **Phase de ralentissement** : la vitesse de croissance régresse. Il y a un épuisement du milieu de culture et une accumulation des déchets. Il existe un début d'autolyse des bactéries.

d) **Phase stationnaire** : le taux de croissance devient nul ($u = 0$). Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent.

e) **Phase de déclin** : le taux de croissance est négatif ($u < 0$). Toutes les ressources nutritives sont épuisées. Il y a accumulation de métabolites toxiques. Il se produit une diminution d'organismes viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes. Cependant, il persiste une croissance par libération de substances libérées lors de la lyse (croissance cryptique).

II. les antibiotiques

II.1. Historique

En 1889, Paul Vuillemin introduit le terme “antibiose” pour décrire le principe actif d’un organisme vivant qui détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie. En 1897, Ernest Duchesne envisagea de faire une activité de moisissures à des fins thérapeutiques, mais son idée ne se mettra en place qu’au XX^{ème} siècle à la suite de la découverte de Sir Alexander Fleming. En 1929, il remarque qu’une de ses cultures de staphylocoques est en partie décimée : les bactéries ont été contaminées par la moisissure *Penicillium notatum*. Il constate aussi qu’elles ne se développent plus là où la moisissure prolifère.

Il formule alors l’hypothèse que cette-dernière synthétise une substance, la pénicilline, qui bloque le développement de la bactérie. Il essaye alors d’extraire le principe actif des moisissures, mais toutes ses tentatives se soldent par des échecs. Dix ans plus tard, le biochimiste américain René Dubos isole le premier antibiotique : la gramicidine. Celle-ci, produite par des bactéries du sol, tue les pneumocoques. Pourtant, ce premier antibiotique reste extrêmement difficile à purifier et hautement toxique [11].

II.2. Définition

Les antibiotiques sont des substances naturelles produites par des micro-organismes, bactéries ou champignons, et capables de tuer des micro-organismes sensibles ou d’inhiber leur croissance » [12].

Ces agents naturels peuvent être modifiés par des méthodes chimiques (antibiotiques semi-synthétiques), d’autres substances sont totalement artificielles (sulfamides, triméthoprime et quinolones). Les antibiotiques sont utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Diverses autres utilisations en sont faites (protection des cultures, marqueurs pour les organismes génétiquement modifiés) [12].

Les antibiotiques sont majoritairement représentés par des molécules d’origine naturelle et leurs dérivés. Ils peuvent aussi être d’origine synthétique ou semi-synthétique[13]. Les antibiotiques synthétiques sont obtenus, soit à partir de dérivés totalement artificiels, soit en recréant des substances initialement extraites de micro-organismes. Les antibiotiques semi-synthétiques sont issus de la modification, en laboratoire, de substances produites par des micro-organismes.

Les antibiotiques sont groupés par familles ou classes en fonction de leurs propriétés structurales. Pratiquement toutes les classes d'antibiotiques ont été découvertes dans un « âge d'or », qui s'est étendu de 1936 à 1962 (figure 7).

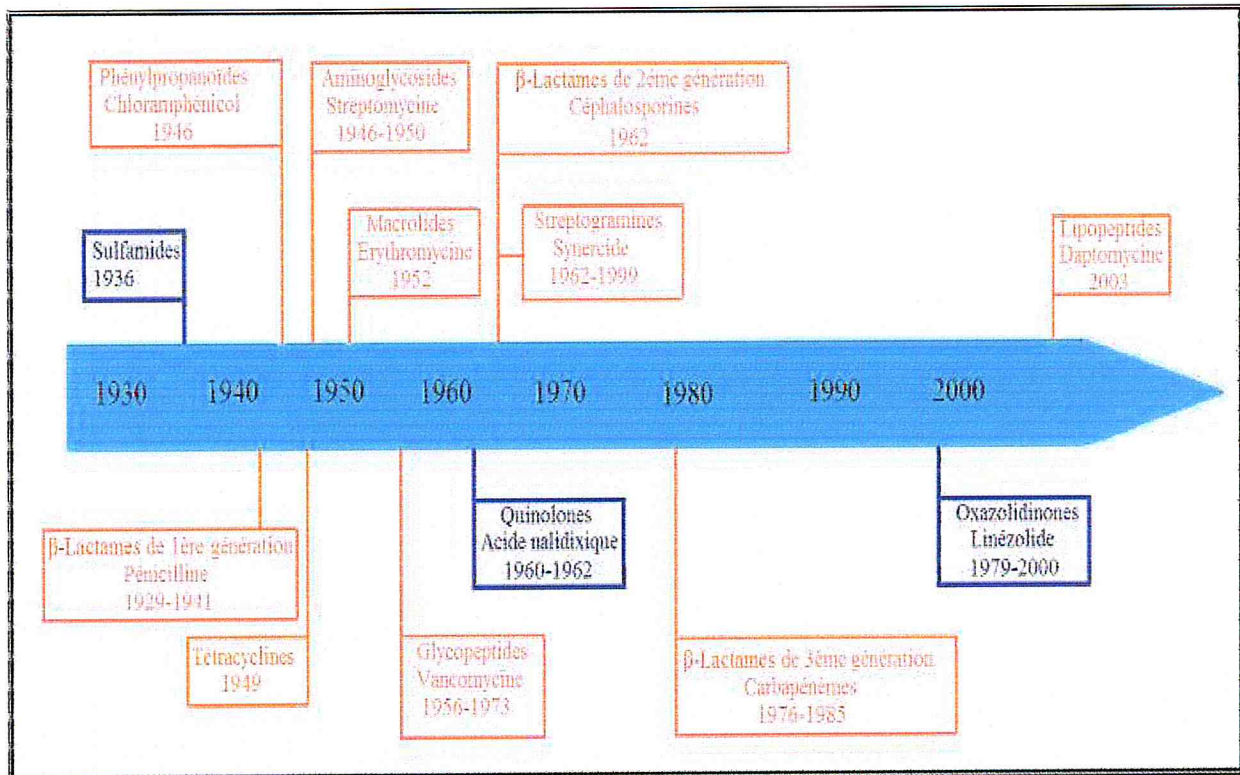


Figure 7. Découverte et premières utilisations cliniques des principaux antibiotiques d'origine naturelle () et d'origine synthétique () [14].

La pénicilline, premier antibiotique à large spectre, isolé des champignons du genre *Penicillium sp*, marque le début de l'ère antibiotique. Elle appartient à la classe des β-lactames. Sa découverte a ouvert la voie à l'identification de nombreuses autres classes d'antibiotiques d'origine naturelle, incluant les phénylpropanoïdes, les tétracyclines, les aminoglycosides, les macrolides, les glycopeptides, les streptogramines et les β-lactames de deuxième génération. Une troisième génération de β-lactames a été commercialisée à la fin des années 1970 : les carbapénèmes [14].

Il existe seulement trois classes d'antibiotiques synthétiques. La première classe est représentée par les sulfamides, qui sont aussi les premiers antibiotiques à avoir été utilisés cliniquement [19]. La seconde classe, les quinolones (ou fluoroquinolones), a été découverte en 1962 [14]. Les oxazolidinones représentent la troisième classe d'antibiotiques synthétiques. Découverte en 1979.

II.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés en fonction de leur mode d'action sur les bactéries (Figure 8).

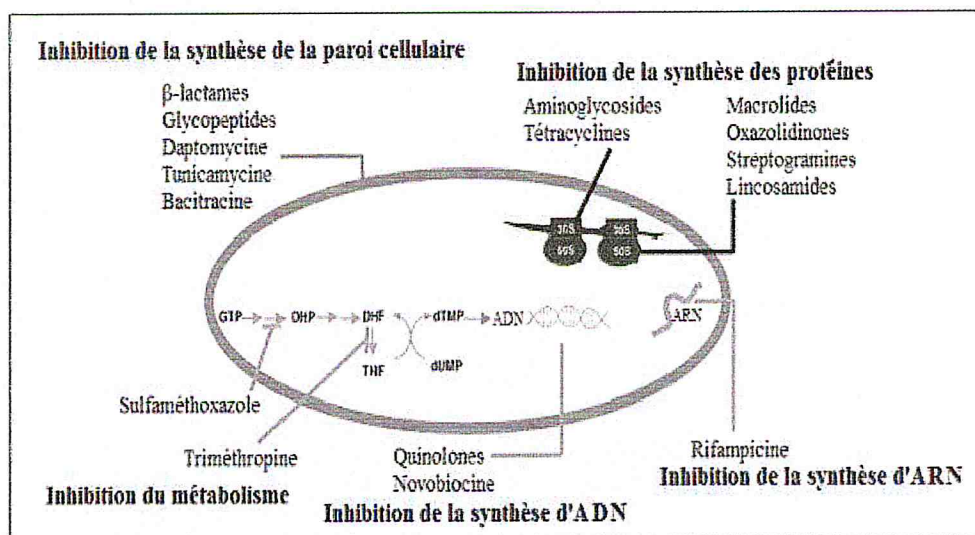


Figure 8. Mode d'action des antibiotiques [14].

Avec DHP : dihydroptéroate ; DHF : dihydrofolate ; THF : tétrahydrofolate

II.3.1. Action sur la paroi bactérienne

L'antibiotique bloque la synthèse de la paroi par inhibition de la transpeptidase ce qui inhibe la synthèse du peptidoglycane. Ceci empêche la formation de nouvelles bactéries et peut entraîner la destruction de celles déjà existantes [16].

Les β-lactames (famille à laquelle appartient la pénicilline) agissent suivant ce mode d'action.

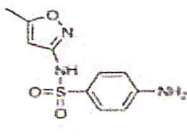
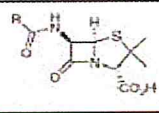
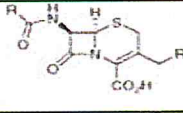
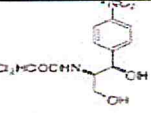
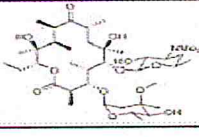
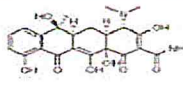
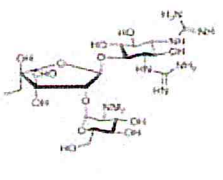
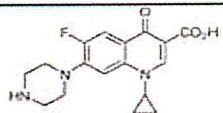
II.3.2. Action sur la membrane cellulaire

L'antibiotique a des propriétés de surfactant qui lui permettent de s'insérer parmi les phospholipides de la membrane externe. Cela perturbe la perméabilité membranaire (augmentation anormale) et permet la diffusion de substances hydrosolubles hors de la bactérie, ce qui entraîne sa destruction. Les poly myxines (lipopeptides cycliques) agissent suivant ce mode d'action [16, 17].

II.3.3. Action sur l'ADN

Les antibiotiques peuvent inhiber la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN), interférer avec les voies métaboliques de synthèse de l'ADN mais leurs cibles principales sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens (tableau 1) [18].

Tableau 1. Mode d'action des principales classes d'antibiotiques [18].

Classe	Origine	Mode d'action	Exemple	Structures chimiques (Singh et Barrett, 2006)
Sulfamides	Synthétique	- Inhibent la synthèse de l'acide folique - Entraînent une diminution de la production	Sulfaméthoxazole	
β -Lactames de 1 ^{ère} génération	<i>Penicillium notatum</i>	Inhibent la synthèse du peptidoglycane par blocage de la transpeptidation	Pénicilline	
β -Lactames de 2 ^{ème} génération	<i>Cephalosporum</i>		Céphalosporine	
Phénylpropanoïdes	<i>Streptomyces venezuelae</i>	Se fixent sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S du ribosome empêchant l'élongation du peptide au cours de la traduction	Chloramphénicol	
Macrolides	<i>Streptomyces erythraeus</i>		Erythromycine	
Tétracyclines	<i>Streptomyces</i>	Bloquent la traduction en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome	Tétracycline	
Aminoglycosides	<i>Streptomyces</i> ou <i>Micromonospora</i>	Se fixent sur la sous-unité 30S du ribosome et bloquent en partie la traduction en engendrant des erreurs de lecture	Streptomycine	
Quinolones et fluoroquinolones	Synthétique	Inhibent la gyrase bactérienne	Ciprofloxacine	

II.3.4. Action sur la synthèse protéique

L'antibiotique interfère avec la synthèse protéique bactérienne en agissant sur les ribosomes. En effet, les ribosomes bactériens (constitués de deux sous-unité 30S et 50S formant un ribosome 70S) sont différents des ribosomes eucaryotes (constitués de deux sous-unités 40S et 60S formant un ribosome 80S) offrant la possibilité d'avoir des substances dont l'action est très spécifique. Les tétracyclines (auréomycine) et les macrolides (érythromycine) agissent suivant ce mode d'action. Les macrolides agissent au niveau de la sous-unité 50S, les tétracyclines agissent sur la sous-unité 30S [14]

II.4. La classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme et le spectre d'action [22].

II.4.1. Selon leurs mécanismes

Le mécanisme d'action des antibiotiques antibactériens n'est pas toujours parfaitement élucidé mais on distingue quatre grands modes d'action : action sur la synthèse du peptidoglycane, action sur la membrane cytoplasmique, action sur l'ADN et action sur la synthèse des protéines [22].

II.4.1.1. Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane

II.4.1.1.1. Les β lactamine

Les bêta-lactamines sont des antibiotiques bactéricides, elles empêchent la synthèse du peptidoglycane, principale constituant de la paroi bactérienne, en inhibant, l'activité enzymatique des protéines liaisons pénicillines. L'action de l'antibiotique peut être annulée par des bêta-lactamases (enzymes produites par les bactéries et qui rompent le cycle beta-lactames) et une concentration excessive des bactéries : c'est l'effet inoculum.

On distingue le groupe des pénicillines (pénames, oxapénames et carbapénames) celui des céphalosporines (céphèmes et oxacéphèmes) et des monobactames.

a) Les Pénames

Ce groupe d'antibiotiques se subdivise en plusieurs sous-groupes comme le montre le tableau suivant.

Tableau 2. Les sous-groupes de Pénames [20, 21, 22].

Sous groupes	Antibiotiques	Spectre d'activité	Mode d'action
Pénicilline G et ses dérivés	Parentérales : -Benzyl Pénicilline (péni G) -Benzyl Pénicilline-procaine -Bénéthamine-benzyl pénicilline -Benzathine- benzyl pénicilline Orales : - Phénoxy méthylepénicilline (pénicilline V) - Clométocilline	Cocci Gram + : Streptocoques (groupe A, C, G et B), Pneumocoques sensibles. Cocci Gram- : <i>Neisseria</i> (surtout le méningocoque). Bacilles Gram+: <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> .	Paroi bactérienne, par toxicité sélective : Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les protéines liant la pénicilline. Les PLP ont une activité transpeptidasique, carboxypeptidasique et transglycolasique.
Pénicillines M (antistaphylocociques)	- Méthicilline - Oxacilline - Isoxazolyl-pénicillines) : Cloxacilline, Dicloxacilline, Flucloxacilline.....	Staphylocoque producteur de pénicillinase. Staphylocoque MRSA (sensibles à l'Oxacilline) Actifs uniquement sur les	L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi.
Amidino-pénicillines	- Mécillinam -Pivmécillinam	bacilles à Gram-, Pas d'action sur les Cocci à Gram+.	On obtient ainsi des formes bizarroïdes
Pénicillines sulfones	Ampicilline+Sulbactam Pipéracilline+Tazobactam	Bactéries à Gram- fermentaires Bactéries à Gram- oxydatifs	(rondes ou filamenteuses) qui aboutissent à la lyse bactérienne.

b) Les Céphèmes

En général les céphèmes, classés selon leur activité antibactérienne en générations . Ce sont tous des produits à large spectre mais dont l'intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif (Tableau 3).

Tableau 3. Les sous-groupes de Céphèmes [20, 21, 22] .

Génération	Antibiotiques	Spectre d'activité	Mode d'action
Céphalosporines de 1ère génération	Injectables, instables métaboliquement Céfalotine, Céfacétrile, Céfapirine Injectables, stables métaboliquement Céfaloridine, Céfazoline Céphalosporines orales: Céfalexine, Céfradine, Céfadroxil, Céfaclor	-Staphylocoque Streptocoques -Certains bacilles à Gram- (E.coli, salmonelles.....) -Inactifs sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Le mode d'action des céphalosporines est identique au mode d'action des autres β lactamines (voir pénames)
Céphalosporines de 2ème Génération	Injectables Céfoxitine (Céfamycine) Céfuroxime, Céfamandole	-Staphylocoque - Streptocoques groupe A <i>-Streptococcus pneumoniae</i> <i>-Haemophilus Influenzae</i> -Bacilles à Gram- -Inactifs sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Céphalosporines de 3ème Génération	Injectables Céfotaxime, Céftrizoxime, Céftriaxone Latamoxef (Oxacephem), Ceftazidime Cefménoxime, Cefpirome, Cefsulodine Cefepime, Cefpirone Orales: Céfixime	-Bacilles à Gram- -Cocci à Gram+ : Pneumocoque, Streptocoque (sauf Entérocoque) -Cocci à Gram -	
Autres Céphalosporines	Céfopérazone, Céfotiam, Céfotétan(céphamycine), Céf Sulodine	<i>Pseudomonas</i> , Cocci à Gram- et entérobactéries.	

c) Carbapénèmes, oxapénames et monobactames

Les carbapénèmes sont des β -lactamines ont un spectre très large avec une grande résistances aux bêta-lactamases (enzymes rendant inefficaces les bêta-lactamines) [20].

Les monobactames et oxapénames sont des β -lactames monocycliques, actifs seulement sur les bactéries Gram – [21].

Tableau 4. Les sous-groupes de Carbapénèmes, oxapénames et monobactames [20,21].

Groupe	Antibiotiques	Spectre d'activité	Mode d'action
Carbapénèmes	Imipénème, Méropénème Ertapénème, Faropenem	Bactéries à Gram- y compris <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Le mode d'action de ces antibiotiques est identique au mode d'action des autres β lactamines (voir Pénames)
Oxapénames ou clavams	Amoxicilline+Acide clavulanique Ticarcilline+Acide clavulanique	Bactéries à Gram- fermentaires Bactéries à Gram- oxydatifs	
Monobactames	- Aztréonam	Actif uniquement sur les bacilles à Gram-y compris <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	

II.4.1.1.2. Les Glycopeptides et les fosfomycine

Tableau 5. Les groupes de Glycopeptides et fosfomycine [20, 21, 22, 23, 24].

Famille	Antibiotiques	Spectre d'activité	Mode d'action
Glycopeptides	-Vancomycine -Teicoplanine	Bactéries à Gram+ et essentiellement: -Staphylocoques - Entérocoques - Pneumocoque résistant aux pénicillines	paroi bactérienne en bloquant la polymérisation du peptidoglycane par un mécanisme complexe.

Non classé	Fosfomycine	<i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Streptococcus pneumoniae</i> Entérobactéries sauf <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Paroi bactérienne à un stade précoce lors de sa synthèse.
------------	-------------	---	---

II.4.1.2. Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines

Ils créent une interférence avec la synthèse protéique bactérienne, cette interférence se fait au niveau de l'une des trois étapes principales de la traduction (l'initiation, l'élongation et la terminaison) [23].

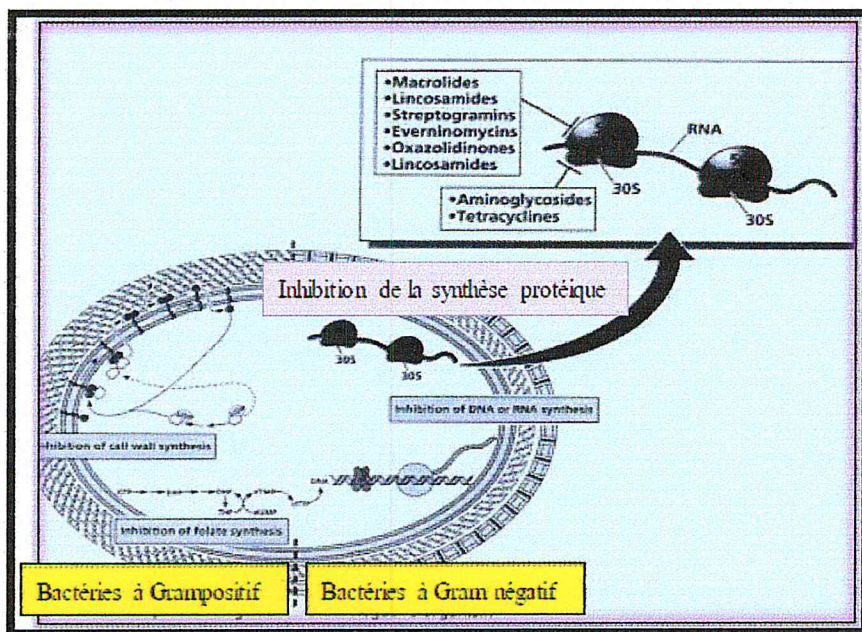


Figure 9. Les principaux antibiotiques inhibiteurs de synthèses protéiques [28].

Tableau 6. Les inhibiteurs de la synthèse des protéines [23,24]

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Aminosides	-Streptomycine, dihydrostreptomycine -Néomycine, Paromomycine Framycétine (voie locale). Kanamycine, Tobramycine Dibékacine, Amikacine -Gentamicine, Sisomycine, Nétilmicine	- Cocci et bacilles à Gram+. - Cocci et bacilles à Gram- -Mycobactéries (streptomycine, kanamycine). -Les anaérobies et les streptocoques.	Sous unité 30S du ribosome. Erreur de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines.
	- Spectinomycine	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
Macrolides Lincosamides- Streptogramines	Macrolides vrais : 14atomes: Erythromycine, Oléando Mycine Roxithromycine, Clarithromycine, Dirithromycine 15atomes: Azithromycine 16atomes: Josamycine, Spiramycine Midécamycine	Cocci à Gram + : Staphylocoque, Streptocoque Cocci à Gram-: <i>Neisseria</i> , Bacilles à Gram+: <i>diphtheriae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Bacillus</i> Certains bacilles à Gram-: <i>Campylobacter</i> , <i>Helicobacter</i> , Autres bactéries : <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia</i> .	Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines, ils agissent au niveau de la s/unité 50S du ribosome. Ils inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique en formation
	Lincosamides : -Lincomycine, Clindamycine	Staphylocoque, Streptocoque.	
	Streptogramines : Pristinamycine, Virginiamycine	Staphylocoque et autres Cocci à Gram+	

Tetracyclines [21,25]	-Oxytetracycline ,Chlortetracycline. -Doxycycline, Minocycline -Glycylcyclines	-Bactéries à multiplication intracellulaire : <i>Chlamydia, Brucella, Rickettsia, Mycoplasma, Borrelia, Leptospira, pasteurella...</i> -Bactéries à Gram+ et – : <i>Neisseria gonorrhoeae, Yersinia pestis</i>	Sous unité 30S du ribosome. inhibiteurs de la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, ils empêchent la fixation de l'aminoacyl-ARNt
Phénicolés [21,22,24]	-Chloramphénicol -Thiamphénicol	Bactéries à Gram+ et - En Algérie ils sont réservés au traitement de la fièvre typho-paratyphoïdique.	Sous unité 50S du ribosome. inhibition de la polymérase.
Oxazolidinones	- Linézolide	Bactéries à Gram+ résistantes aux traitements habituels y compris les multi résistantes.	Ils interagissent avec l'unité ribosomale 50S et ont un mécanisme d'action non encore complètement élucidé.

II.4.1.3. Les antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires

Elles appartiennent à la classe des polypeptides cycliques. Elles agissent comme des détergents cationiques : grâce à leur caractère amphipathique, elles pénètrent dans la cellule bactérienne et s'insèrent parmi les phospholipides des membranes externes et cytoplasmiques, ce qui entraîne la désorganisation de celles-ci et perturbe la perméabilité membranaire [20].

Tableau 7. Les antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires [20,24].

Famille	Antibiotiques	Spectre d'activité	Mode d'action
Polymixines	- Polymixine B - Polymixine E ou colistine	Bacilles à Gram- sauf : Proteus, Providentia, <i>Serratia marcescens</i> <i>Morganella morganii</i> et <i>Edwardsiella tarda</i> Les bactéries à Gram+ et les mycobactéries sont naturellement résistantes.	Ils possèdent une charge positive et agissent comme des agents tensio-actifs. Ils agissent sur la membrane cellulaire en se fixant sur les phospholipides d'où rupture de la barrière osmotique.

II.4.1.4. les antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques

Les antibiotiques de cette catégorie agissent à différents niveaux du métabolisme des acides nucléiques (Figure 10).

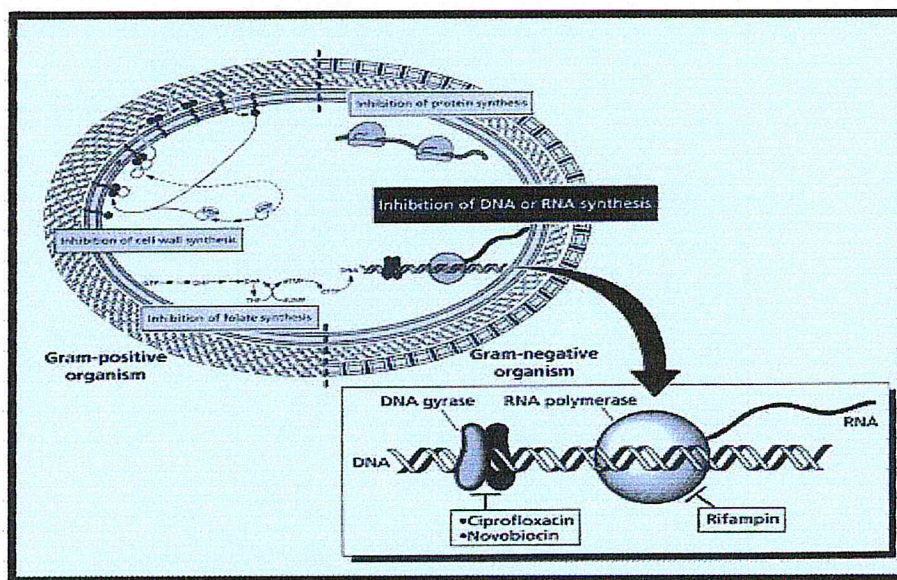


Figure 10. Principaux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates [28].

Tableau 8. Les inhibiteurs des acides nucléiques [20,23].

Famille	Antibiotiques	Spectre d'activité	Mode d'action
Quinolones	Acide nalidixique, Acide pipémidique, Acide oxolinique, Fluméquine	Entérobactéries Les Gram+ sont résistants	Inhibition sélective de la synthèse de l'ADN
Fluoroquinolones	- Péfloxaciné, Ofloxaciné Norfloxacine, Ciprofloxacine	Entérobactéries et Staphylocoques	bactérien en agissant sur deux enzymes impliqués dans cette synthèse: l'ADN gyrase et l'ADN topo-isomérase
Rifamycines	Rifamycine	-Mycobactéries -Bactéries à Gram+ à développement cellulaire.	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARN messager (ARNm) par inhibition de l'ARN polymérase.
Nitrofuranes	Infections urinaires: Nitrofurantoïne Hydroxyméthyl-nitrofurantoïne Infections intestiales: Furazolidone ,Nifuroxazide	Bacilles à Gram - . Inactifs sur Pseudomonas, Acinetobacter et autres Gram -.	Agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases)
Non classé	Novobiocine	Staphylocoque, cocci à Gram- Haemophilus et Pasteurelles.	Inhibe la réplication de l'ADN
Sulfamides	Sulfapyridine,Sulfafurazole Sulfaméthoxydiazine Sulfaméthoxyypyridazine Sulfaméthoxazole	Bactéries à Gram - mais il existe beaucoup de résistances vis à vis de ces antibiotiques.	Inhibent la synthèse acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydroptéroate synthétase (DHPS)

II.4.1.2. Selon l'activité antibactérienne

Lorsqu'on met les bactéries au contact d'un antibiotique, on observe des phénomènes qui diffèrent selon la concentration en antibiotique [15].

En pratique l'action d'un antibiotique sur une souche bactérienne peut être caractérisée par deux paramètres :

- ✓ La CMI (Concentration Minimale Inhibitrice de la croissance bactérienne)
- ✓ La CMB (concentration minimale bactéricide) laissant un nombre de survivants inférieur ou égale à 0,01 % de l'inoculum bactérien de départ.

Ces concentrations sont déterminées par des méthodes par dilution et des méthodes par diffusion (méthode des disques). Un germe est considéré comme « sensible » à un antibiotique si la CMI est inférieure aux concentrations de l'antibiotique obtenues dans l'organisme avec les posologies usuelles. Si la CMI est supérieure à ces concentrations, le germe est dit « résistant ». Si elle est voisine de ces concentrations, la souche est dite « intermédiaire » [15].

II.4.1.2.1. Les antibiotiques bactéricides

Ce sont des antibiotiques dont la CMB peut être atteinte dans l'organisme avec des posologies usuelles [26]. La CMB est souvent proche de la CMI. Elles sont privilégiées dans les infections graves ou les infections survenant chez les immunodéprimés. Les antibiotiques bactéricides sont :

- ✓ Les betalactamines.
- ✓ Les aminosides.
- ✓ Les quinolones.
- ✓ Les polypeptides.
- ✓ Les rifamycines.

II.4.2.1.2. Les antibiotiques bactériostatiques

Ce sont des antibiotiques dont la CMB peut être atteint in vivo avec des posologies usuelles. Ils inhibent la croissance des bactéries et la défense de l'organisme se charge de la destruction du reste des germes [27]. Ce sont :

- ✓ Les cyclines.
- ✓ Les macrolides.
- ✓ Les phénicolés.

- ✓ L'acide fusidique.
- ✓ Les nitrofuranes.
- ✓ Les sulfamides.

La connaissance de l'effet bactéricide ou bactériostatique d'un antibiotique est essentielle en antibiothérapie. La prescription d'un antibiotique bactéricide ou bactériostatique sera fonction de la gravité de l'infection et de l'état du malade.

II.5. La résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que l'apparition des antibiotiques. Les antibiotiques sont au départ des substances naturelles générées par des champignons mais aussi par certaines bactéries pour se défendre contre les autres bactéries.

II.5.1. La résistance naturelle

C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait partie du patrimoine génétique normal du germe [29]. *Klebsiella spp* produit naturellement des bêta-lactamases, et les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides [29].

II.5.2. La résistance acquise

A côté de la résistance naturelle, existe aussi des résistances acquises, c'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques, ces nouveaux gènes peuvent être obtenus soit par mutation au niveau du chromosome, soit par transfert d'ADN des plasmides conjuguais ou de transposons (Figure 11) [30].

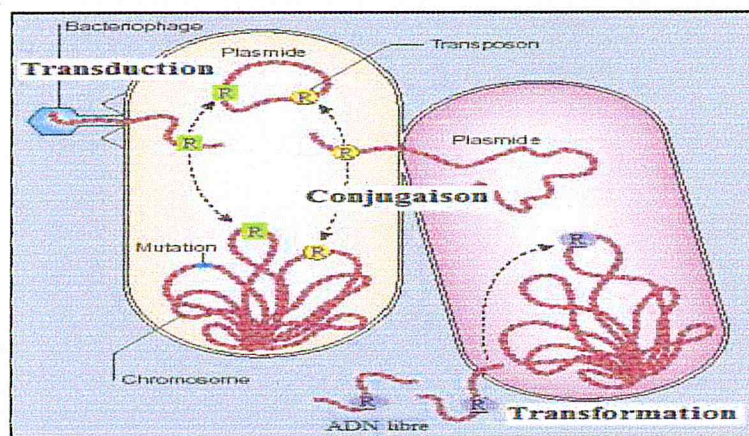


Figure 11. Les différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries [30].

III. L'aromathérapie

III.1. Historique

L'Histoire de l'aromathérapie se confond avec celle de la phytothérapie jusqu'au XX^{ème} siècle. En réalité le terme « aromathérapie », issu du latin « aroma = odeur » et du grec « therapein = soin », fut créé en 1928 par un chercheur lyonnais, Monsieur Gattefossé René-Maurice. La petite Histoire dit qu'il aurait découvert les propriétés de l'huile essentielle de lavande lors d'une explosion dans son laboratoire de parfumerie qui le brûla gravement. Il aurait trempé sa main dans un vase plein d'huile essentielle de lavande. La brûlure régressa rapidement sans laisser de cicatrice ni d'infection [31].

Ce chimiste continua les recherches et les expériences dans ce domaine puis publia en 1931 un ouvrage « Aromathérapie » dans lequel il décrivait ses expériences et étudiait les relations structures-activités. Il découvrit les propriétés des principales molécules aromatiques.

Au milieu du XX^{ème} siècle le docteur Jean Valnet vulgarisa la médecine par les plantes et les huiles essentielles. Ancien médecin et chirurgien des armées, il fut le premier à utiliser les plantes. Ceci du fait de la pénurie des médicaments dits classiques et assurément de sa certitude envers les propriétés médicinales des plantes. Il contribua à une étude scientifique des traitements d'aromathérapie et de phytothérapie [31]. En 1971 il fonda l'association de recherche en phytothérapie et aromathérapie car selon lui : « Unissant les recherches modernes aux enseignements du passé, la phytothérapie et l'aromathérapie n'ont jamais cessé d'être des médecines millénaires et d'avenir. » [31]. Soucieux de la diffusion de son savoir, le Docteur Valnet écrivit de nombreux ouvrages. Il transmet son savoir également à travers des conférences internationales. Il reste encore aujourd'hui dans la mémoire des gens, le père de l'aromathérapie et la phytothérapie.

Le Docteur Valnet forma les médecins Jean-Claude Lapraz et Christian Duraffourd qui ouvrirent des écoles dans lesquelles étaient effectuées des expériences et des recherches approfondies sur les propriétés chimiques et thérapeutiques des plantes et de leurs extraits aromatiques.

Les chémotypes sont des sous groupes dans une seule et même espèce de plante. Ces plantes ne se différencient ni par l'aspect macroscopique ni par l'aspect microscopique mais seulement par les composants aromatiques qu'elles produisent .

Le thym à thymol (*Thymus vulgaris thymoliferum*) majoritairement composé d'un phénol est dermocaustique alors que son chémotype le thym à linalol, un monoterpénol, entraîne des irritations cutanées légères. Cette notion est primordiale pour faire bon usage des huiles essentielles.

Aujourd'hui l'enseignement est peu répandu mais fait l'objet de quelques Diplômes Universitaires dont celui de Besançon bien équilibré dans son enseignement encadré par le Docteur Jean-Michel Morel, médecin généraliste et président de la « société franc-comtoise de phytothérapie et d'aromathérapie ». Des recherches sont en cours dans le monde entier pour mieux comprendre et utiliser l'aromathérapie [31,32].

III.2. Définition

L'aromathérapie est l'utilisation à des fins médicales des huiles essentielles. Elle fait partie des médecines naturelles, c'est une « niche » de la phytothérapie [32]. Comme en phytothérapie, on distingue deux types d'aromathérapie. Il y a l'aromathérapie de terrain grâce à laquelle l'Homme est considéré dans sa globalité (traitement de fond) et l'aromathérapie symptomatique pour traiter les manifestations ou les causes d'une maladie.

III.3. Les huiles essentielles

Selon le Professeur Valnet, père de l'aromathérapie, « l'huile essentielle est la partie atomique de la plante et le concentré de ses propriétés ». Les huiles essentielles sont des assemblages de molécules complexes. Chacune ayant une propriété pharmacologique. Une goutte d'huile essentielle contient en moyenne 150 molécules différentes. On comprend alors aisément qu'une seule huile essentielle puisse avoir plusieurs vertus thérapeutiques donc plusieurs indications. Et inversement que plusieurs huiles essentielles peuvent traiter les mêmes maux [32].

La pharmacopée française définit une huile essentielle comme « un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage.

Une huile essentielle est souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de composition ». L'association française de normalisation (l'AFNOR), sous tutelle du ministère chargé de l'industrie, a mis au point une norme française : « Une huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par

entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche » [31].

III.4. Méthodes d'obtention des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont obtenues par distillation de l'essence des plantes. Les essences sont des liquides odorants composés de petites molécules volatiles que seules les plantes aromatiques sont capables de produire par leur métabolisme secondaire.

Elles constituent pour elles entre autres un moyen de défense contre les prédateurs en les repoussant et un moyen de multiplication en attirant les insectes pollinisateurs. Ces essences sont produites dans divers cellules sécrétrices situées dans presque toutes les parties de la plante (graine, fruit, feuille, bouton floral, racine...) et constituent des poches à essences [33].

III.4.1. La distillation à la vapeur d'eau

Cette méthode est aussi appelée hydrodistillation. Son objectif est de recueillir de l'eau est portée à ébullition. La vapeur qui se dégage est acheminée vers le vase à fleurs contenant les parties de plantes. Les molécules aromatiques volatiles (essences) sont entraînées par la vapeur vers le col de cygne et le serpentín du réfrigérant. Autour du serpentín de l'eau froide circule. Ceci dans le but de condenser les vapeurs. A la sortie du réfrigérant on obtient un mélange d'eau et d'huile essentielle [33].

Il est recueilli dans un vase florentin. Les huiles essentielles sont pour la plupart moins denses que l'eau donc surnagent après décantation. On obtient deux produits de distillation : l'huile essentielle et l'hydrolat appelé eau florale si la partie traitée est la fleur. Il arrive que l'hydrolat soit distillé une seconde fois pour extraire les composants volatiles les plus lourds. C'est le cohobage. L'huile essentielle obtenue est intacte mais de composition différente de l'essence du fait de l'action de la chaleur et de l'oxygène qui hydrolysent et oxydent les composés.

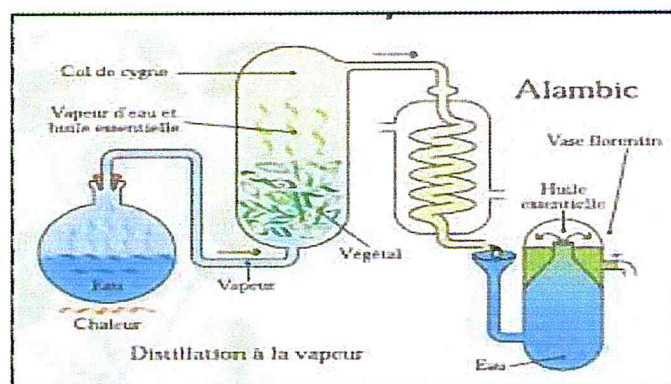


Figure 12. Distillation à la vapeur de l'essence végétale [31].

III.4.2. L'expression à froid

Les essences des Citrus sont extraites par expression à froid car les poches à essences des Citrus sont situées dans l'épiderme ou zeste des fruits de ces plantes (orange, citron, ...). La fragilité extrême des structures aldéhydiques et terpéniques des essences de citrus ne permet pas l'hydrodistillation. Pour extraire ces essences on peut abraser les zestes des fruits avec une machine pelatrice. Des plateaux recouverts de lames et de pointes déchirent l'écorce et brisent les cellules huileuses. De l'eau est pulvérisée et entraîne les essences. Il est important de ne pas souiller l'essence avec la pulpe de fruit [33].

L'extraction se fait à partir des écorces déjà séparées de la pulpe. Les peaux sont tournées sous une pression constante pour faire sortir les essences. Une émulsion est très souvent obtenue du fait de la présence de pectines dans le mésocarpe. Une seconde étape est indispensable pour faire une essence pure : la centrifugation.

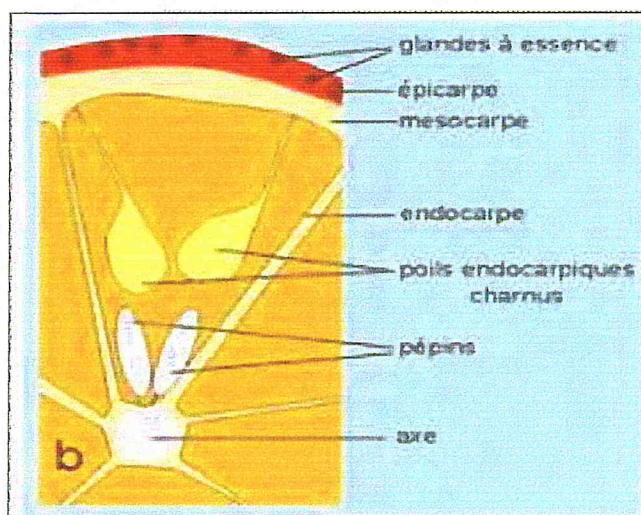


Figure 13. Structure des citrus [31].

Ce schéma illustre la structure particulière des Citrus. Les glandes à essences situées sur la partie colorée externe du fruit nommée épicarpe ou flavedo.

Le mésocarpe aussi appelé albedo constitue la couche blanche riche en pectine et en cellulose. Et enfin l'endocarpe ou pulpe riche en sucre, arômes et vitamines [31].

De manière légale, il n'existe pas de distinction entre huile essentielle et essence. Dans les deux cas, les liquides odorants obtenus sont des concentrés de principes actifs volatils de la plante. Le maniement des huiles essentielles ne doit donc pas être approximatif et nécessite une connaissance approfondie en la matière. Même si l'aromathérapie est indissociable de la phytothérapie, on ne peut en aucun cas extrapoler les indications de la plante entière à celles de l'huile essentielle qui lui correspond. L'huile essentielle ne contient qu'une partie très réduite de l'ensemble des composés moléculaires de la plante entière, cet échantillon est extrêmement concentré. Les différences de composition entre la plante entière et l'huile essentielle sont surtout dues aux propriétés physico-chimiques des molécules, à savoir la liposolubilité ou l'hydrosolubilité [34].

III.4.3. L'infusion

Dans ce cas, il faut macérer la plante après l'avoir réduite en petits morceaux et mélanger à de l'huile d'olive. Cette opération peut prendre plusieurs jours jusqu'à ce que les constituants soient tous absorbés par l'huile d'olive. Une fois cette étape terminée, il suffit de filtrer l'ensemble afin de retirer tous les résidus [34].

III.4.4. L'extraction par solvants

Ce procédé est utilisé dans le cas de plante qui contiennent peu d'huile essentielle. Les plantes sont placées dans un extracteur mélangées à un solvant. Lorsque ce solvant se trouve saturé d'huile essentielle, il est distillé, ce qui permet d'obtenir une pâte crémeuse dénommée "concrète". Celle-ci est lavée à l'alcool puis glacée et filtrée. Seul l'alcool est conservé car il est chargé en parfum. Il faut alors procéder à une dernière opération qui consiste à faire évaporer cet alcool, il ne reste finalement que l'essence de la plante. Cependant, il faut savoir que cette technique ne permet pas d'obtenir des huiles essentielles totalement pures puisqu'elles contiennent encore un faible pourcentage de solvant [34].

III.4.5. L'enfleurage

L'enfleurage est habituellement réservé aux fleurs qui contiennent de très faibles concentrations en essences (jasmin...). Les fleurs sont mises au contact de graisses absorbantes qui seaturent progressivement en essence. Les pommades ainsi préparées sont employées telles quelles ou épuisées par de l'alcool absolu. On obtient ainsi des extraits alcooliques aux fleurs appelés « absolues » [31].

III.5. Voies d'administration des huiles essentielles

III.5.1. La voie orale

La voie orale est indiquée pour des infections internes (digestives, respiratoires, urinaires ou génitales) et plutôt conseillée chez l'adulte. Les huiles essentielles peuvent être avalées pures ou diluées sur un support type mie de pain, comprimé neutre, huile végétale, miel ou sucre. Il est préférable de les prendre avant de manger car le pylore est ouvert. Les huiles essentielles atteignent directement l'intestin évitant les renvois. Les gélules et les capsules gastro-résistantes permettent de remédier à ce problème.

La voie sublinguale est un bon réflexe. Les huiles essentielles pures atteignent rapidement la circulation générale, leur effet est presque instantané ; c'est une voie d'urgence [35].

III.5.2. La voie olfactive (diffuser, respirer ou inhaler)

Les cibles de cette voie sont les millions de récepteurs olfactifs directement liés au système limbique (Thalamus, corps mamillaires, hippocampe, amygdale, bulbe olfactif...); le cerveau des émotions [31,35].

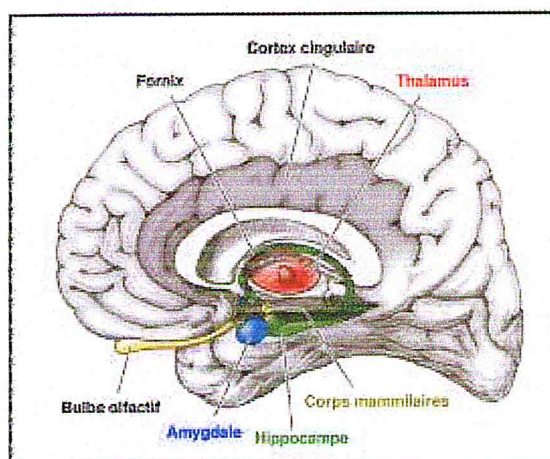


Figure 14. Structure du système limbique [31].

La diffusion assainit l'atmosphère, prévient des épidémies, repousse les insectes et détend. Elle est indiquée dans les problèmes nerveux ou psychologiques. Il existe des diffuseurs électriques, mais les gouttes d'huiles essentielles peuvent aussi être déposées sur une soucoupe placée sur une source de chaleur modérée comme un radiateur par exemple. La respiration directe consiste à déposer une goutte d'huile essentielle pure sur les poignets et de respirer en positionnant les mains en « cathédrale ». Deux voies sont utilisées : la voie olfactive et la voie générale. Les huiles essentielles rejoignent rapidement la circulation sanguine. Elle est indiquée dans les situations d'urgence émotionnelle : chocs, stress, grignotages... [31].

Enfin les inhalations sèches ou humides. Toutes deux indiquées dans les infections pulmonaires pour décongestionner et désinfecter. Les inhalations humides sont les plus anciennes. Les gouttes d'huiles essentielles sont mélangées à l'eau chaude dans un bol et le malade respire les vapeurs en se couvrant la tête d'une serviette.

L'inhalation sèche est pratique. Quelques gouttes d'huiles essentielles sont déposées sur un mouchoir, en coton de préférence, que le malade respirera à fond. L'idéal est de faire un nettoyage des sinus avec de l'eau de mer au préalable pour préparer les muqueuses [35].

Tableau 9. Posologies de la voie olfactive chez l'adulte et l'enfant de plus de 7 ans [35].

mode d'administration		Posologies
Diffusion		4 à 5 gtt (soucoupe) Se référer au diffuseur
Respiration directe		1 gtt à la demande
Inhalation	Humide	5 gtt dans le bol d'eau - 8 min
	Sèche	2 à 3 gtt sur le mouchoir

III.5.3. La voie cutanée

La voie externe cutanée est un excellent mode d'administration des huiles essentielles. Etant lipophiles, elles traversent rapidement la bicouche de phospholipides cutanés pour atteindre la circulation sanguine. Une fois appliquées, leur action ne peut être ni freinée ni maîtrisée. La voie cutanée est indirectement une voie générale et olfactive.

III. 5.4. Autres voies

La voie rectale est une voie interne d'action rapide. Surtout indiquée dans les affections respiratoires (bronchites, laryngites...). La vascularisation importante de la muqueuse rectale permet un passage rapide des huiles essentielles dans la circulation sanguine. Parfaitement adaptée aux enfants, elle est une bonne alternative à la voie orale quand le goût des huiles essentielles dérange. La voie vaginale est intéressante dans le cadre d'infections vaginales bactériennes ou mycosiques qui nécessitent un contact prolongé des huiles essentielles avec la muqueuse. Les ovules gynécologiques peuvent être fabriqués en pharmacie à base d'huiles essentielles antifongiques et antibactériennes [35].

IV. Généralités sur *Onopordum acanthium*

IV.1. Description

L'Onopordum acanthium (chardon aux ânes) C'est une grande plante à cycle de végétation bisannuel , pouvant atteindre 2,5m ou plus en hauteur et 2 m de largeur. Tiges principales peuvent être jusqu'à 10 cm de large à la base. Les tiges ont rangées verticales de premier plan, épineux, matériel foliaire en forme de ruban ou «ailes» qui se étendent à la base des capitules. Les feuilles, qui sont armés avec de fortes épines jaunes, sont jusqu'à 60cm de long et 30cm de large. Surfaces supérieures et inférieures des feuilles sont recouvertes d'un épais tapis de poils semblables au coton ou laine (figure 15) [36].



Figure 15. *L'Onopordum acanthium* ou chardon aux ânes [38].

IV.1.1. Tiges et feuilles

Cette plante a habituellement une seule tige principale avec plusieurs branches dans les parties supérieures. Tant la tige principale et les branches sont largement ailées. Ces ailes sont environ 10 mm de large et armés de nombreuses épines. Les tiges sont densément couverts en gros mensonge poils qui leur donnent un aspect cotonneux blanchâtre.

Les feuilles sont recouvertes de façon similaire à poils cotonneux blancs, en particulier sur leur face inférieure, et possèdent également de nombreuses épines (jusqu'à 10 mm de long) le long de leurs marges. Ils sont généralement allongés dans les grandes lignes avec irrégulièrement dentés marges ou profondément divisées. Ces feuilles ont souvent un gris-bleu distinctif (c'est à dire glauque) d'apparence. Rosette feuilles sont pédonculés, très grand (10 à 40 cm de long et de 3 à 10 cm de large) et relativement large. Tige feuilles sont disposées en alternance, sessiles, et de devenir plus petit et plus étroit vers le haut de la plante (figure 16) [36,37,38].



Figure 16. Les tiges et feuilles de l'*Onopordum acanthium* [38].

IV.1.2. Fleurs et fruits

Les capitules sont supportés individuellement ou en petits groupes de deux ou trois, à l'extrémité des branches [37]. Ils sont de couleur pourpre, rouge-violet ou de couleur mauve, le chardon-like, et ne pas avoir de «pétales» évidentes. Ces capitules (2-6 cm de long et environ 4 cm de large) consistent en de nombreux petits bouquets tubulaires entouré par un grand nombre de bractées épineuses. Chaque bractées (environ 25 mm de long) a une base poils laineux et une colonne vertébrale forte à son extrémité qui est jaunâtre ou de couleur orange. La floraison a lieu principalement au printemps et en été (ce est à dire d'Août à Décembre)[38].

Les «semences» allongés sont pour la plupart de couleur grise, avec des marbrures plus sombre, et avoir une surface légèrement ridée. Ces «semences» (4-5 mm de long) sont surmontées d'un anneau de poils blanchâtres dentées, de couleur (5-10 mm de long) qui deviennent facilement détaché lorsque la semence est mature (Figure 17) [38,39].

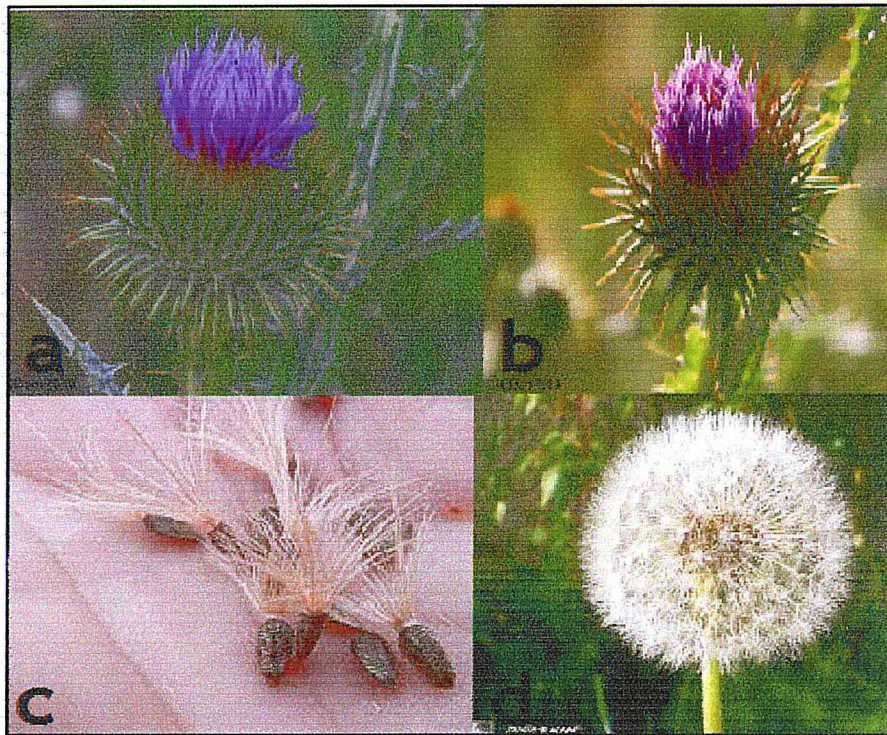


Figure 17. Fleurs (a,b) et fruits (c,d) de l'*Onopordum acanthium* [38].

IV.2. Distribution

O. acanthium est bien établi dans les zones continentales à climat d'été-sec [39]. Dans l'Ouest américain, *O. acanthium* infeste les prairies humides et les pâturages, ainsi que armoise plus aride . *O. acanthium* est souvent associée à des lieux de déchets, ainsi que les rivières, les ruisseaux, canaux ou autres cours d'eau. Il peut également être abondante dans les pâturages secs, champs et pâturages . En particulier, la plante pousse dans les sols légers, bien drainés, sableux ou caillouteux . Température et humidité, plutôt que les concentrations de nutriments du sol déterminent la performance écologique des espèces *Onopordum* [40,41].

IV.3. Les impacts générales

Les infestations de *Onopordum acanthium* réduire la production de fourrage et pratiquement interdisent l'utilisation des terres pour le bétail. Peuplements denses des grandes plantes épineuses constituent un obstacle au mouvement du bétail, à l'exclusion presque totalement les animaux de pâturage et accès à l'eau. En outre, *O. acanthium* peut se propager à rapidement [42].

IV.4. La reproduction

Les plantes individuelles produisent 8400 à 40 000 graines [43]. Les graines sont dispersées localement par le vent; l'homme, l'eau, le bétail et la faune sont impliqués dans la dispersion à longue distance [44].

Les graines sont sensibles à la lumière et pendant quelques graines vont germer dans l'obscurité, des études indiquent que la plupart germination avec une alternance de cycles lumière / obscurité, avec 8 heures étant la longueur de jour optimale. Les cypsèles (fruits) de *O. acanthium* afficher un degré considérable de variation, à la fois morphologique et physiologique (pourcentage de germination) [45].

IV.5. L'utilisation

Coton chardon est vendu comme plante ornementale. Il aurait été utilisé pour traiter les cancers et les ulcères et de diminuer les rejets de muqueuses. Le réceptif a été mangé dans les temps anciens comme un artichaut. Les poils cotonneux sur la tige ont été recueillies pour l'occasion oreillers de trucs. Huile de coton graines de chardon a été utilisé en Europe pour la gravure et la cuisine [46][47].

IV.6. l'activité antibactérienne

Les activités antibactériennes de *O. acanthium* ont été testés par la méthode des disques ou l'aromatogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé par les composant phénoliques, les huiles essentielles, et le méthanol qui extraits des feuilles et des semences de la plante, sont présentées à la figure 18, et aussi les diamètres des zones d'inhibition pour le positif extraits sont présentés. La présence d'un zone d'inhibition varié en fonction de la type de bactéries [48].

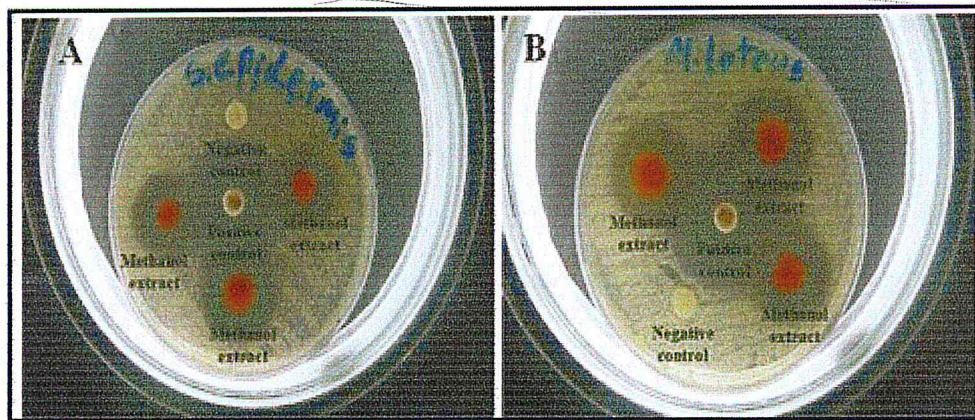


Figure 18. La zone d'inhibition de l'extrait de *O. acanthium* pour *S. epidermidis* (A) et *M. luteus* (B) [48].

IV.7. La classification

Régne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Classe : *Angiospermae*

Sous classe : *Dicotyledonae*

Ordre : *Astérales*

Famille : *Astéraceae*

Genre : *Onopordum*

Espèce : *Onopordum acanthium*

Chapitre II
Matériel et Méthodes

I. Le matériel végétal

La plante *Onopordum acanthium* a été récoltée le mois de juin 2011 dans la région d'Elhamma, Wilaya de Khenchela. L'identification botanique de l'espèce a été réalisée par le professeur BENAYACHE Samir. La partie aérienne est nettoyée, séchée à l'ombre et à température ambiante puis stockée à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation.

II. L'extraction

L'extrait méthanolique de la partie aérienne de *O. acanthium* a été préparé à partir de 120 g de broyat des tiges, qui ont été mis à macérer dans un b cher qui contient le mélange hydroalcooliques; méthanol /l'eau D (7:3)   la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24 heures (macération alcoolique) [49]. Cette technique est effectuée 3 fois, suivie chaque fois d'une filtration, le méthanol est ensuite éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite à 40 C dans un Rotavapeur pour obtenir l'extrait brut méthanolique. L'extrait sec est conservé au réfrigérateur (**Figure 19**).



Figure 19. Photographie du Rotavapeur (Laboratoire SNV Université Khenchela)

Le schéma ci-dessous résume les différentes étapes suivies pour l'obtention d'un extrait méthanolique à partir des tiges de la plante *O. acanthium*.

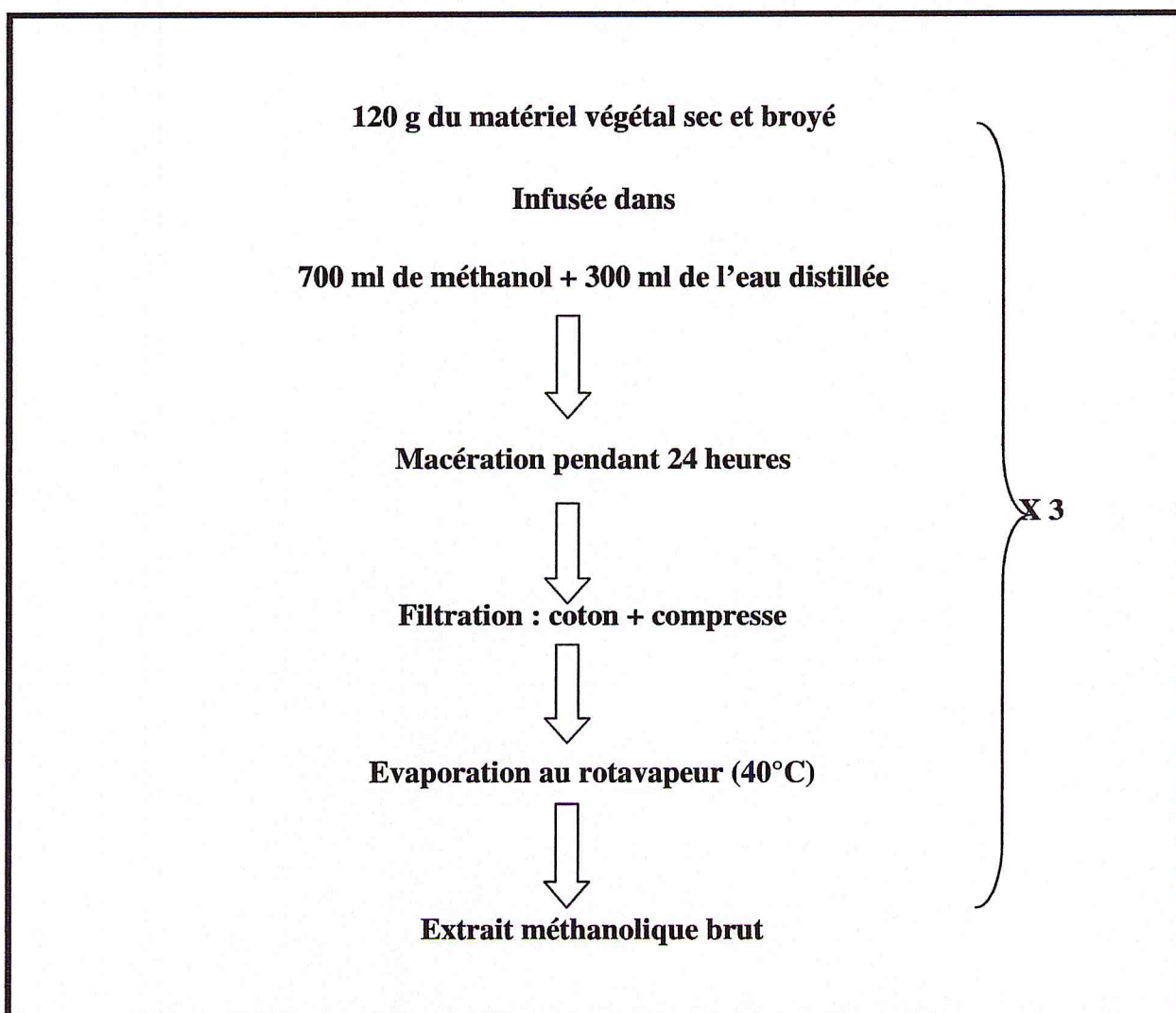


Figure 20. Protocole de préparation de l'extrait méthanolique de la partie aérienne par macération [49].

III. L'activité antibactérienne

III.1. Les souches bactériennes testées

L'activité antibactérienne des extraits méthanolique de l'espèce *Onopordum acanthium* a été évaluée sur six souches bactériennes disponibles au niveau du laboratoire du centre hospitalier de la wilaya de Khenchela, elles proviennent de l'American Type Culture Collection ATCC (4 souches à Gram négatif et 2 à Gram positif).

Tableau 11. Les références des souches bactériennes testées

Souches	Gram	Code ATCC
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC27853
<i>Salmonella</i>	Négatif	Souche sauvage
<i>Proteus mirabilis</i>	Négatif	Souche sauvage
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 25923
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 43300

III.1.1. La souche « S₁ & S₃ » *Staphylococcus aureus*

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupés en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré [50]. *S. aureus* représente est la cause de méningite, et la diarrhée [51].

III.1.2. La souche « S₂ » *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif [50], de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm [51].

Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales [50].

III.1.3. La souche « S₄ » *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 µm de long et 0.5 à 0.8 µm de largeur. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, *P. aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéroplastés [52].

III.1.4. La souche « S₅ » *Proteus mirabilis*

Cette bactérie est de forme bacille aérobie, Gram négatif et très mobile. Germe impliqué dans l'apparition d'infections urinaires. Il se trouve habituellement dans l'intestin, le tractus urinaire et les reins de l'être humain. *Proteus mirabilis* est très souvent présent chez les personnes hospitalisées pour une période prolongée [53].

III.1.5. La souche « S₆ » *Salmonella*

Salmonella (bacille à Gram négatif) est la première cause de toxi-infections alimentaires collectives bactérienne dans le monde, elle est l'une des préoccupations majeures des laboratoires de contrôle de qualité alimentaire. *Salmonella* est largement répandue dans les différents réservoirs animaux (porcs, bovins, volailles...) et dans certaines denrées destinées à l'homme [53].

III.2. Préparation de l'inoculum

III.2.1. Préparation de la pré-culture

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des cultures est effectuée par repiquage à la surface de la gélose nutritive pré coulée en boîte de Pétri (Figure 21), ensuite incubée à 37C° pendant 18 à 24h.

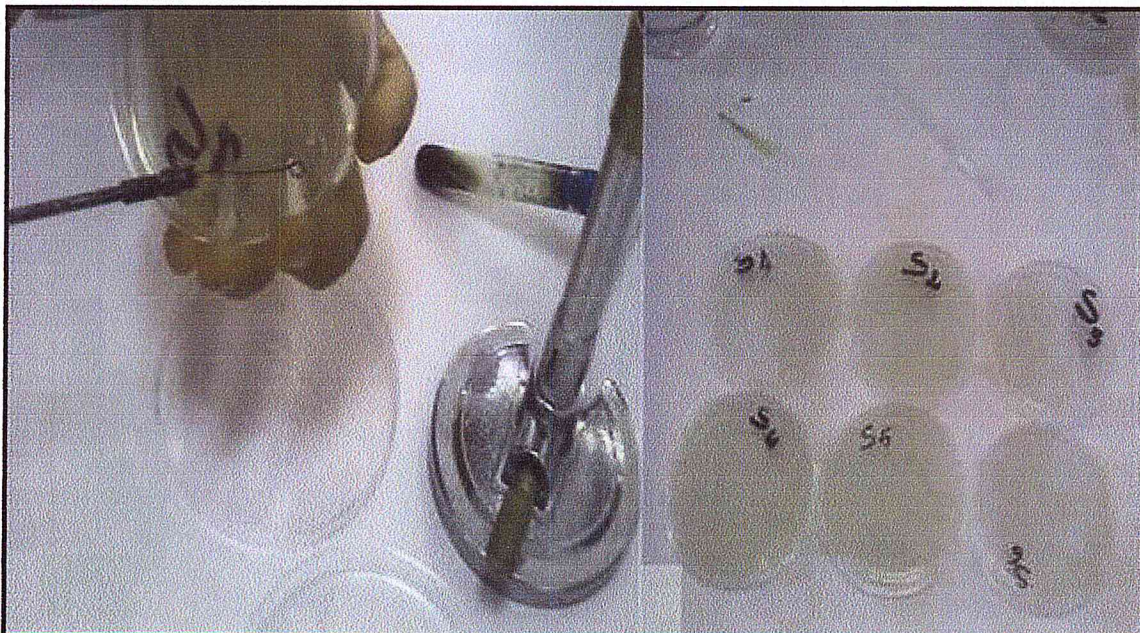


Figure 21. Repiquage des souches bactériennes à la surface de la gélose nutritive.

III.2.2. Préparation de la suspension bactérienne

Dans 9ml de l'eau physiologique stérile, 3 à 5 colonies similaires bien isolées sont déchargées (**Figure 22**). L'homogénéisation de la suspension bactérienne est à l'aide d'un vortex.

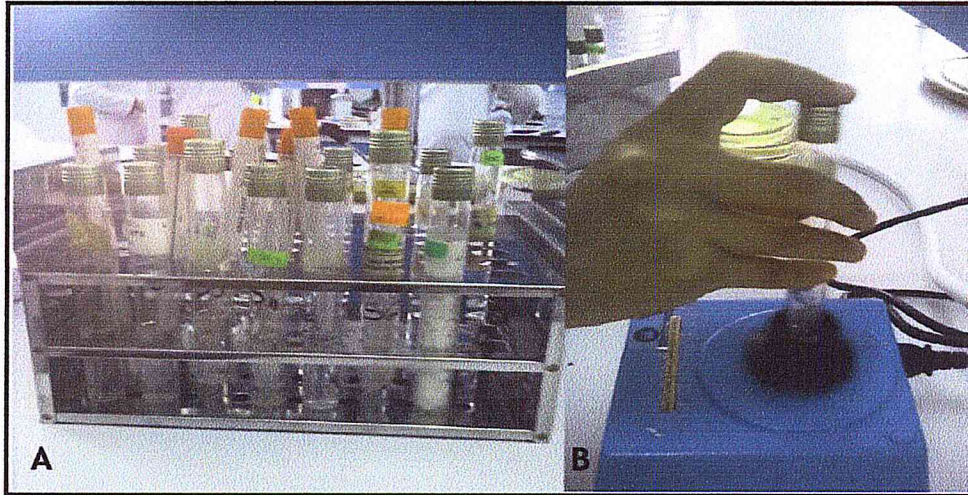


Figure 22. La préparation de la suspension bactérienne.

A. Préparation des suspensions, B. l'homogénéisation de la suspension avec un vortex

III.2.3. L'ensemencement bactérien (préparation des tapis bactériens)

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé Mueller Hinton en surfusion a été coulé aseptiquement à raison de 15ml par boîte. Après la solidification, un écouvillon stérile a été imbibé dans la suspension bactérienne et étalé à la surface de la gélose à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. Deux boîtes sont utilisées pour chaque souche. (**Figure 23**).

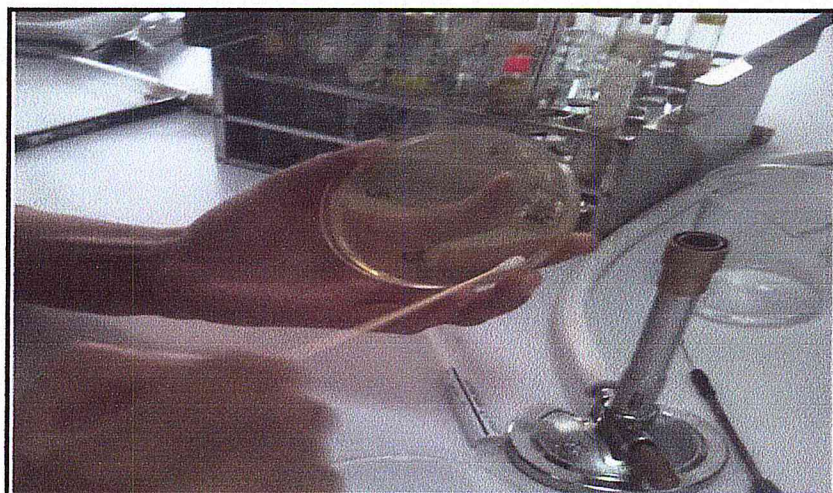


Figure 23. L'ensemencement de la suspension bactérienne.

III.3. Préparation des doses de l'extrait

L'extrait de *O. acanthium* a été dissous dans deux solvants différents (le méthanol et le DMSO), avec différentes concentrations ; 0,1g/ml et 0,2g/ml pour le méthanol et 0,2g/ml pour le deuxième solvant le DMSO [55].

A partir de la solution mère de chaque préparation ; trois doses différentes sont prélevées pour tester l'activité de l'extrait ; 10µl, 20 µl et 30 µl [55]. (tableau 12)

Tableau 12. Les différentes doses préparées pour chaque solvant

Solvant	Solution mère	Doses de l'extrait
Le méthanol	0,1 g/ml	10 µl
		20 µl
		30 µl
	0,2g/ml	10 µl
		20 µl
		30 µl
Le DMSO	0,2g/l	10 µl
		20 µl
		30 µl

III.4. Préparation des disques d'aromatogramme

La technique suivi pour évaluer l'activité antimicrobienne de notre produit est l'aromatogramme ou la méthode de diffusion en milieu gélosé en utilisant des disques stériles du papier Whatman N°3, avec un diamètre suivant le diamètre de l'emporte pièce. [54]

Les disques préparés sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave à 120°C/20mn, à la suite, trois disques sont imbibés par les différentes doses de l'extrait, et un autre disque est imbibé par le solvant comme témoin. Les différents disques sont placés à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen à la surface des tapis bactériens déjà préparés sur la gélose Muller Hinton (figure 24).

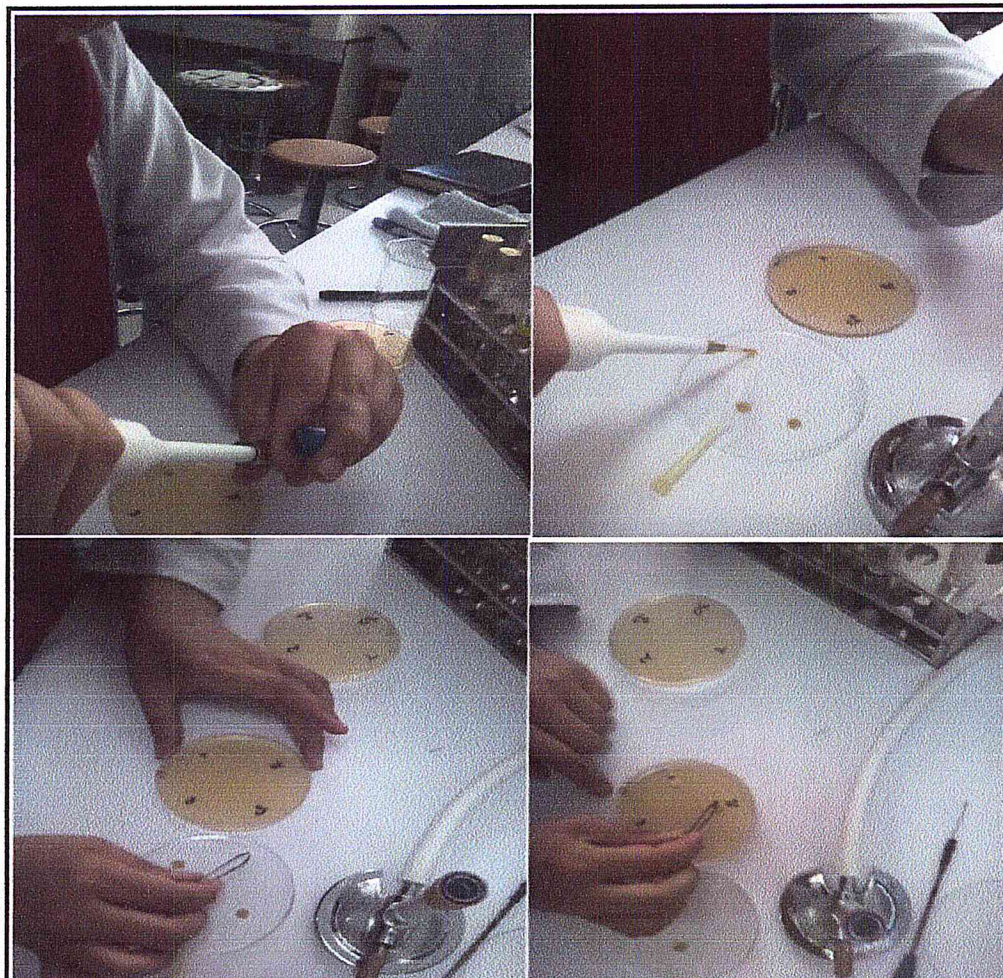


Figure 24. Les étapes d'application des disques.

Après l'incubation à 37°C/24h, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres (**figure 25**).

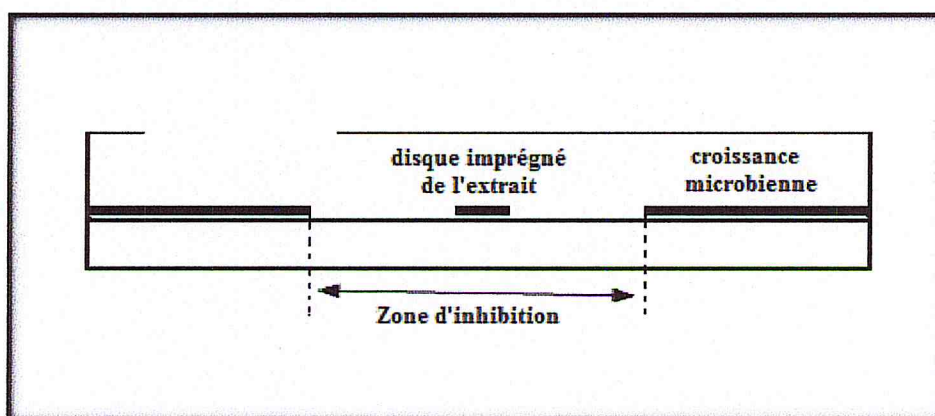


Figure 25. L'aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné de l'extrait végétale [54].

Chapitre III
Résultats et discussion

I. L'extraction

Les résultats de la présente étude indiquent qu'à partir de macération de 120 g poudre des tiges de la plante *O.acanthium* et 700 ml de méthanol mélangée avec 300 ml d'eau distillée pendant 24 heures, nous avons obtenu un extrait méthanolique considéré comme étant l'extrait brut de couleur verte foncée (Figure 26).



Figure 26. Photographie de l'extrait méthanolique

II. L'activité antibactérienne

C'est une méthode inspirée de l'antibiogramme qui permet de déterminer l'activité inhibitrice d'agent antibactérien par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque imprégné de différentes doses à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension du microorganisme à étudier. On observe ainsi autour des disques une zones circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition.

L'activité antibactérienne de notre extrait méthanolique d'*O. acanthium* à été testée sur 6 souches bactériennes disponibles au niveau du laboratoire du centre hospitalier de Khenchela, l'évaluation de l'activité antibactérienne à été faite par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Le pouvoir antibactérien de notre produit est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

L'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne est donnée par Mutani *et al.*, 2009 [56], qui ont classé les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne en 5 classes :

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30$ mm.
- Fortement inhibitrice : $21 \text{ mm} \leq D \leq 29$ mm.
- Modérément inhibitrice : $16 \text{ mm} \leq D \leq 20$ mm.
- Légèrement inhibitrice : $11 \text{ mm} \leq D \leq 16$ mm.
- Non inhibitrice : $D < 10$ mm.

II.1. L'utilisation du méthanol comme solvant

Après 24h d'incubation, la lecture des boîtes ensemencées se fait par la mesure de diamètres des zones d'inhibition autour de chaque dose de l'extrait et la comparé avec le résultat obtenu autour de disque témoin (solvant sans extrait).

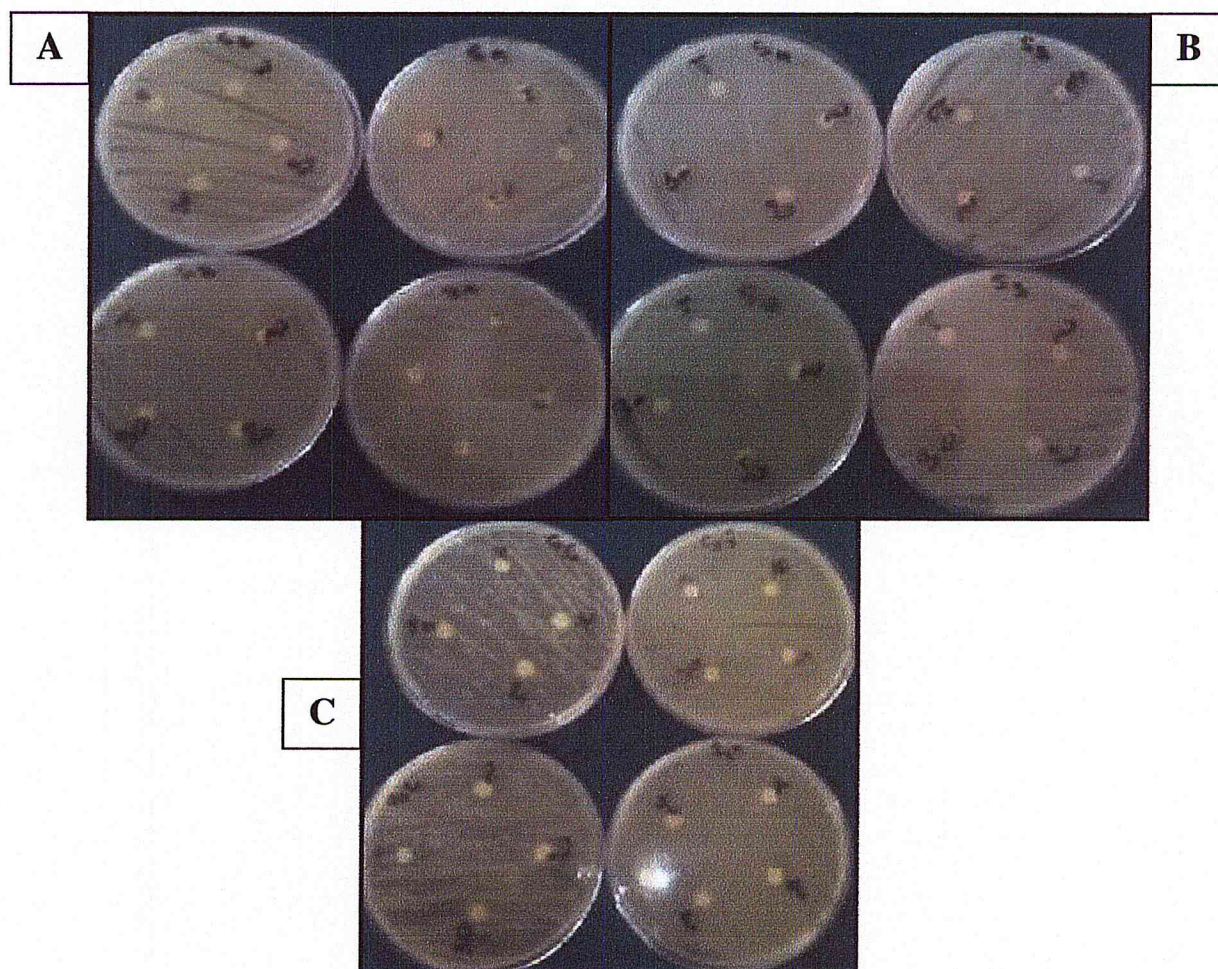


Figure 27. La sensibilité des souches testées par 0,1g/ml de l'extrait méthanolique

(A) S₁ *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, S₂ *E.coli*. (B): S₃ *S.aureus* ATCC 25923, S₄ *P.aeruginosa*. (C): S₅ *Proteus mirabilis*, S₆ *Salmonella*).

II.1.1. L'utilisation de 0,1g/ml de l'extrait

La figure 27 ainsi que le tableau 13 montrent les résultats obtenus en utilisant 0,1g/ml de l'extrait avec les trois doses 10 μ l, 20 μ l et 30 μ l et avec l'utilisation du méthanol comme témoin. Aucune zone d'inhibition n'apparaît autour des disques de témoin ce qui montre que le méthanol n'a aucun effet antibactérien sur les six souches [57]. L'application de l'extrait avec des trois doses ne donne aussi aucune zone d'inhibition, ceci peut être expliqué par la dose faible de l'extrait [58], et/ou la solubilisation faible de l'extrait dans le solvant méthanolique [59].

Tableau 13. Résultats des diamètres moyens de la zone d'inhibition de l'extrait méthanolique dessous dans le méthanol.

	Souches	[SM]	Répétitions	Doses de l'extrait			
				10 μ l	20 μ l	30 μ l	T
Gram négatif	S ₂	0,1g/ml	R ₁	-	-	-	-
			R ₂	-	-	-	-
		0,2g/ml	R ₁	-	-	-	-
			R ₂	-	-	-	-
	S ₄	0,1g/ml	R ₁	-	-	-	-
			R ₂	-	-	-	-
		0,2g/ml	R ₁	-	-	-	-
			R ₂	-	-	-	-
	S ₅	0,1g/ml	R ₁	-	-	-	-
			R ₂	-	-	-	-
		0,2g/ml	R ₁	-	-	-	-
			R ₂	-	-	-	-
S ₆	0,1g/ml	R ₁	-	-	-	-	
		R ₂	-	-	-	-	
	0,2g/ml	R ₁	-	-	-	-	
		R ₂	-	-	-	-	
Gram positif	S ₁	0,1g/ml	R ₁	-	-	-	-
			R ₂	-	-	-	-
		0,2g/ml	R ₁	-	-	-	-
			R ₂	-	-	-	-
	S ₃	0,1g/ml	R ₁	-	-	-	-
			R ₂	-	-	-	-
		0,2g/ml	R ₁	-	-	-	-
			R ₂	-	-	-	-

S₁: *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, S₂: *E.coli*, S₃: *S.aureus* ATCC 25923, S₄: *P.aeruginosa*, S₅: *Proteus mirabilis*. S₆: *Salmonella*. [SM] : Concentration de la solution mère. R₁: La première répétition. R₂: la 2^{ème} répétition. T : témoin. (-) : absence de zone d'inhibition.

II.1.2. L'utilisation de 0,2g/ml de l'extrait

L'augmentation de la concentration de l'extrait de 0,1g/ml à 0,2g/ml, et l'application de cette concentration avec différentes doses sur les six souches en utilisant le méthanol pure comme témoin, donnent des résultats négatifs traduits par l'absence des zones d'inhibition autour des disques (figure 28 et tableau 13). Ceci revient à le fait que l'extrait n'est pas totalement dessous dans le solvant méthanol [60].



Figure 28. La sensibilité des souches testées par (0,2g/ml) de l'extrait méthanolique (S_1 *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, S_2 *E.coli*, S_3 *S.aureus* ATCC 25923, S_4 *P.aeruginosa*, S_5 *Proteus mirabilis*, S_6 *Salmonella*.)

Le tableau 13 et la figure 27 ainsi la figure 28 montrent l'absence de l'activité antibactérienne de l'extrait de la plante *O. acanthium* dessous dans le méthanol comme solvant. Chaque concentration est testée deux fois sur chaque souche, et les résultats sont toujours négatifs.

II.2. L'utilisation du DMSO comme solvant

Le diamètre moyen de la zone d'inhibition observée autour des disques imprégnés de différentes doses d'extrait méthanolique (10 μ l, 20 μ l et 30 μ l) préalablement dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) avec la dose de 0,2g/ml, après 24 heures d'incubation à 37 °C sont résumés dans le tableau 14.

Tableau 14. Résultats des diamètres moyens de la zone d'inhibition de l'extrait méthanolique dessous dans le DMSO.

	Souches	[SM]	Répétitions	Doses de l'extrait			
				10 μ l	20 μ l	30 μ l	T
Gram négatif	S ₂	0,2g/ml	R ₁	9mm	10mm	13mm	-
			R ₂	14mm	15mm	20mm	-
			Moy.	11.5mm	12.5mm	16.5mm	-
	S ₄	0,2g/ml	R ₁	00mm	8mm	10mm	-
			R ₂	00mm	8mm	11mm	-
			Moy.	00mm	8mm	10.5mm	-
	S ₅	0,2g/ml	R ₁	17mm	20mm	21mm	-
			R ₂	15mm	17mm	24mm	-
			Moy.	16mm	18.5mm	22.5mm	-
	S ₆	0,2g/ml	R ₁	00mm	00mm	6mm	-
			R ₂	7mm	9mm	11mm	-
			Moy.	7mm	9mm	8.5mm	-
Gram positif	S ₁	0,2g/ml	R ₁	9mm	10mm	10mm	-
			R ₂	9mm	12mm	14mm	-
			Moy.	9mm	11mm	12mm	-
	S ₃	0,2g/ml	R ₁	13mm	20mm	22mm	-
			R ₂	15mm	21mm	22mm	-
			Moy.	9mm	20.5mm	22mm	-

S₁: *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, S₂: *E.coli*, S₃: *S.aureus* ATCC 25923, S₄: *P.aeruginosa*, S₅: *Proteus mirabilis*. S₆: *Salmonella*. [SM]: Concentration de la solution mère. R₁: La première répétition. R₂: la 2^{eme} répétition. T: témoin. (-): absence de zone d'inhibition. Moy: moyenne.

II.2.1. Le test de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les souches à Gram négatif

Le tableau 14 ainsi que la figure 29, montrent que l'extrait dissous dans le DMSO a un effet inhibiteur sur des souches à Gram négatif, traduit par des zones claires autour des disques.

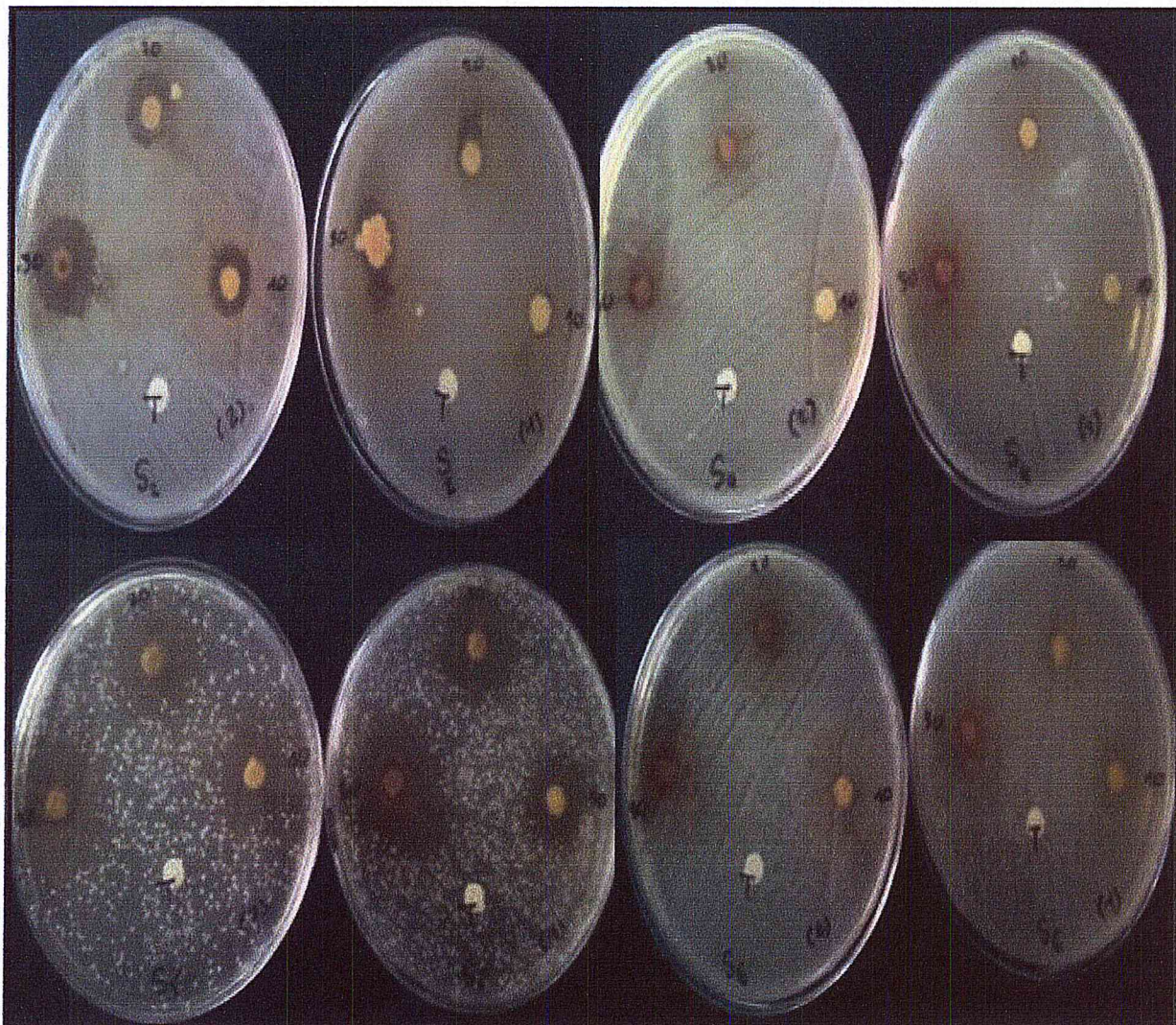


Figure 29. La sensibilité des souches à Gram négatif ; testées par 0,2g/ml de l'extrait méthanolique.

S₂: E.coli, S₄: P.aeruginosa, S₅: Proteus mirabilis. S₆: Salmonella.

Selon l'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne donné par **Mutani et al., 2009**, l'application de la dose de 10µl de l'extrait a donné un effet sur *E.coli* et *Proteus mirabilis* légèrement inhibiteur avec un diamètre moyen de **12mm** et **16mm** respectivement, tandis que la même dose n'est pas considéré comme inhibitrice sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella* avec un diamètre moyen de **00mm** et **7 mm** respectivement.

Ces résultats montrent que *E.coli* et *Proteus mirabilis* sont sensibles à des extraits des plantes médicinales [60]; tandis que *Salmonella* et *Pseudomonas aeruginosa* sont plus résistantes ou bien la dose de l'extrait n'est pas assez suffisante pour avoir un effet inhibiteur direct sur ces deux souches.

L'application de la dose de 20µl de l'extrait donne des résultats modérés sur *E.coli* et *Proteus mirabilis* avec des moyennes de **13mm** et **19mm** de diamètres, et aucune inhibition n'a été obtenu sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella* avec des moyennes de **8mm** et **9mm** de diamètres.

La dose de 30 µl donne un bon effet d'inhibition fortement élevé sur *Proteus mirabilis* (**23mm**) et un effet modéré sur *E.coli* (**17mm**) et un effet léger sur *Salmonella* (**11mm**) et *Pseudomonas aeruginosa* (**10 mm**) qu'on peut les considérer comme résultats négatifs [61].

Les deux souches de *Pseudomonas* et de *Salmonella* sont résistantes à l'activité de l'extrait de *O.acanthium*, ces résultats sont trop proches aux résultats obtenus par [Zare et al., 2014] [61], et les deux autres souches *E.coli* et *Proteus mirabilis* sont sensibles à cet extrait qui a un effet inhibiteur sur ces souches. Le résultat négatif de témoin (DMSO pure) montre que ce solvant n'a aucun effet sur les souches [62].

II.2.2. Le test de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les souches à Gram positif

Un effet d'inhibition trop fort est obtenu en appliquant 0,2g/ml de l'extrait avec différentes doses (10,20 et 30 µl) sur la souche **S₁** (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300) avec des valeurs de diamètre entre **15** et **25mm**, et un effet modéré en appliquant les mêmes dose sur **S₃** (*S.aureus* ATCC 25923) avec des diamètres de **10 à 12mm** (tableau 14).

Les souches à Gram positif sont plus sensibles à cet extrait par rapport aux souches à Gram négatif; Il est certainement dû à la structure de lipopolysaccharide des bactéries à Gram négatif qui limite notamment la pénétration de matières hydrophiles et polaires externes à travers la paroi cellulaire [63].

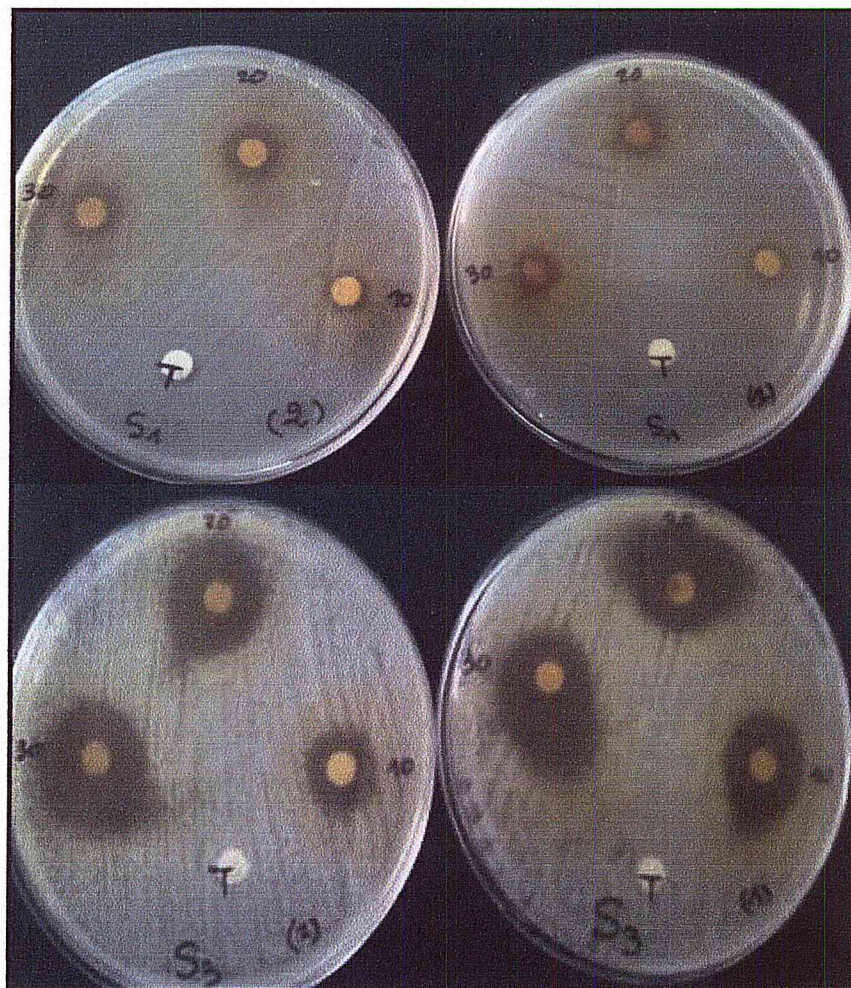


Figure 30. La sensibilité des souches à Gram positif ; testées par 0,2g/ml de l'extrait méthanolique.

S₁: Staphylococcus aureus ATCC 43300, S₃: S.aureus ATCC 25923

Il peut être conclu que l'existence de composés phénoliques dans les extraits méthanolique, tels que les flavonoïdes et les phenylethanoids qui se trouvent dans les espèces de *Onopordon*, est probablement la cause principale de l'activité antibactérienne de l'extrait de cette plante [61].

Certaines plantes ont une activité ou un effet inhibiteur sur la croissance microbienne en fonction de leur constitution et de leurs concentrations. Ces plantes sont très riches par des composés phénoliques qui sont utilisés pour des fonctions défensives. Ce sont des métabolites secondaires de plantes qui contiennent un ou plusieurs dérivés d'hydroxyle des cycles benzéniques et peuvent affecter la croissance et le métabolisme des bactéries [64].

Différentes espèces d'*Onopordon* contiennent des composés tels que les flavonoïdes, phénylpropanoïde et sesquiterpènes qui peuvent avoir des mécanismes de défense pour la

plante contre de nombreux micro-organismes. En outre, différents articles indiquent que les composés phénoliques végétaux constituent l'un des composés qui a des effets biologiques multiples [65].

Selon cette étude, on peut conclure que l'existence de composés phénoliques dans les extraits méthanoliques, tels que les flavonoïdes et les phényl-éthanoïdes (qui se trouvent dans plusieurs espèces d'*Onopordon*), est probablement la cause principale de l'activité antibactérienne.

Les activités antimicrobiennes des composés phénoliques peuvent impliquer de multiples modes d'action. Par exemple, les huiles essentielles qui dégradent la paroi cellulaire peuvent interagir avec la composition bactérienne et perturbent la membrane cytoplasmique, coagulent le cytoplasme, épuisent la force motrice de protons, changent les constituants phospholipidiques, altèrent les mécanismes enzymatiques de la production de l'énergie, modifient l'absorption des nutriments et le transport d'électrons, ainsi ces huiles peuvent altérer la synthèse de l'ADN et de l'ARN et détruire la translocation des protéines et la fonction de la mitochondrie des Eucaryotes [61].

Conclusion

L'accroissement des infections microbiennes, couplées à l'insuffisance en médicaments efficaces, nous a conduits à nous intéresser à l'inépuisable source de produits naturels à vertu thérapeutique : les plantes médicinales.

A coté des médicaments synthétiques prescrits dans le traitement des infections microbiennes, de nombreux produits naturels ont été testés dans le but de trouver un agent antimicrobien efficace, sans effet néfaste pour l'organisme et moins couteux.

L'ensemble des résultats microbiologiques obtenus au cours de cette étude nous a permis de montrer que notre produit testé possède une activité antimicrobienne très importante, dans la quelle certaines souches semblent se distinguer par une sensibilité très élevée par rapport aux autres.

Le test de l'activité antibactérienne appliqué sur six souches bactériennes dont quatre sont à Gram négatif et les deux autres sont à Gram positif, en utilisant deux solvants différents ; le méthanol et le DMSO avec deux concentrations différentes (0,1g/ml et 0,2g/ml) et avec trois doses de chaque concentrations (10µl, 20 et 30 µl). Ce test est effectué par la méthode de disques imbibés par l'extrait et appliqués sur un tapis microbiens déjà ensemencé sur milieu Muller Hinton ; cette technique nous a permit de tester l'effet inhibiteur de l'extrait obtenu des tiges de la plante *O.acanthium*.

L'utilisation du méthanol comme solvant n'a donné aucun effet inhibiteur sur les six souches, et même après l'augmentation de la concentration de 0,1 à 0,2g/ml, ceci est expliqué par une faible solubilité de l'extrait dans ce solvant ; tandis que l'utilisation du DMSO comme solvant a montré une activité antibactérienne très importante sur les souches à Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, et *S.aureus* ATCC 25923, avec des diamètres d'inhibition entre 12 et 25mm.

En revanche ; les souches à Gram négatif sont plus résistantes à cet extrait ; *Pseudomonas aeruginosa* montre une forte résistance vis-à-vis cet extrait même avec l'augmentation de la concentration, ceci certainement dû à la structure de lipopolysaccharide de ces bactéries qui limite notamment la pénétration de matières hydrophiles et polaires externes à travers la paroi cellulaire

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de notre plante *O.acanthium* s'est avérée très intéressante, les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de *O.acanthium* possède un large spectre d'activité antimicrobienne sur les bactéries Gram +

L'évaluation de l'activité inhibitrice de l'extrait méthanolique de notre produit a révélé que leurs taux d'inhibition varient selon plusieurs facteurs, dont la concentration de l'extrait, le solvant utilisé ainsi que de la souche microbienne utilisée.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

Déterminer des nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

Faire des études profondes de l'activité antioxydante et antibactérienne des composés flavonoïdes de cette plante.

Enfin, confirmer par des tests *in vivo* l'intérêt thérapeutique de cette plante.

Référence bibliographiques

- [1] J.Nicklin, K.Graeme-cook, T.Paget & R.killington, 2000, "l'Essentiel en microbiologie" Ed, BERTI PARIS.
- [2] M.Madigan, J.Martinko, & J.Parker, 2000, *Biology of microorganisms*, ninth edition ed.Prentice hall Inc.
- [3] DR.Oliveira et al. 1992, *Physico-chemical aspects of adhesion*, in *Biofilms; science and technology*, Kluwer academic: Dordrecht. p. 45-58. Melo, Editors.
- [4] R.Jolds, 1979, « Atlas en couleurs de microbiologie » Ed. S.Maloine.
- [5] J.Larpent & M.Larpent-Gourgaud, 1985, *Eléments de microbiologie*, Paris:Hermann.
- [6] L.Albert, 1982, "principles of biochemistry "Ed, Worth publishers.
- [7] N.Neut, 1996, *Significance of bacterial surface-active compounds in interaction of bacteria with interfaces*. *Microbiological reviews*, p. 151-166.
- [8] H.Leclerc, D.Izard, M.Husson, P.Watter, E.Jakubczac, 1983, « *Microbiologie générale* », Ed, Dion, Paris.
- [9] N.Green, W.Stout, D.Taylor, 1995, " **BIOLOGICAL SCIENCE**", Ed, Cambridge LOW Price, U.K.
- [10] R.Cunin, 1993, *Introduction à la génétique bactérienne*, ed, Vigot, Paris.
- [11] P.Bègue, J.Astre, 1998, *Pathologie infectieuse de l'enfant*. 1ere édition, Paris : Flammarion.
- [12] L.Prescott, J.Harley, D.Klein, 1995, *Microbiologie*, De Boeck ed, p 1014.
- [13] D.Newman, G.Cragg, M.Snader, 2003, *Natural products as sources of new drugs, over the period 1981-2002*, *J. Nat, Prod*, 66: 1022-1037.
- [14] B.Singh, J.Barrett, 2006, *Empirical antibacterial drug discovery, foundation in natural products*, *Biochem, Pharmacol*, 71: 1006-1015.
- [15] E.Cambau, 1996, *Antibiotiques*, *La Revue Du Praticien*, n° 46, p 2343-2350.
- [16] Inserm, 1999, *Les peptides antimicrobiens : les agents anti-infectieux du futur*, *Atelier de formation n° 110*.

- [17] D.Decre, P.Courvalin, 1997, De l'intérêt d'antibiotiques nouveaux, 160-164
Vol.12, n° 2.
- [18] Chastus, Dancla & Martel, 1997, Résistance aux antibiotiques chez les animaux d'élevage, 152-159.
- [19] G.Laub, 1986, Discovery of the sulfa drugs. *South Med. J.*, 79: 782.
- [20] J.Francois, M.Chomarot, M.Weber, A.Gerard, 2003, De l'antibiogramme à la prescription, BIOMERIEUX, 2ème édition: p8-p22.
- [21] L.Minor, M.Veron, 1989, *Bactériologie Médicale*, Flammarion : 1107 p.
- [22] D.Yala, A.Merad, D.Mohamed, M.Korichi, 2001, *Médecine du Maghreb*, n°91 : p512.
- [23] V.Cattoir, 2006, Chloramphénicol, fosfomycine, acide fusidique et polymyxines, in : ANTILOGRAMME COURVALAIN.P, R.LECLERCQ & E.BINGEN, 2ème édition:P349-364.
- [24] H.Normak & S.Normak, 2002, Evolution and spread of antibiotic resistance, *J.Intern. Med.*: 91-106.
- [25] H.Goossens, D.Guillemot, M.Ferech, B.Schlemmer, M.Costers, M.Breda, L.Baker, O.Cars & G.Davey, 2006, National campaigns to improve antibiotic use, *Pharmacol.* 62: 373-379.
- [26] P.Yagupsky, 2006, Selection of antibiotic-resistant pathogens in the community, *Pediatr. Infect. J. Dis.*, 25: 974-976.
- [27] B.Levys & B.Marshall, 2004, Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses, *Nat. Med.*, 10: 122-129.
- [28] C.Walsh, J.Traujer, P.Courvalin & J.Davies, 2001, Adapté à partir du poster des mécanismes d'action et de la résistance aux antibiotiques, *Trends In Microbiology, the Latent Infectious Diseases, Current Opinion in Microbiology, Trends In Molecular Medecin*, Vol 8.

- [29] M.Lechevalier & H.Lechevalier, 1981, **Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces*** In: *Biology of industrial microorganisms, The Benjamin Cumming Publishing Company, INC*, pp. 315-360.
- [30] G.Wright, 2007, **The antibiotic resistance: the nexus of chemical and genetic diversity**, *Nature Rev, Microbiol*, 5: 175-186.
- [31] K.Hiramatsua, H.Hanaki, T.Ino, K.Yabuta, T.Oguri et F.Tenover, 1997, **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduce vancomycin succébtibility**. *J Antimicrob Chemother*. 40 :135-46.
- [32] S.Dewey, 1991, **Weed thistles of the western United States**, In: James, L.F., J.O. Evans, M.H. Ralphs, and R.D. Child, eds. *Noxious Range Weeds*. Westview Press, Boulder, Colorado, pp, 247-253.
- [33] G.Piper, 1984, **Scotch thistle – a continuing menace in the Pacific Northwest**, *Pacific Northwest Weed Topics* 84:1-2.
- [34] C.Hitchcock, A.Cronquist, M.Ownbey & J.Thompson, 1955, **Vascular Plants of the Pacific Northwest, Volume 5: Compositae**. University of Washington Press, Seattle.
- [35] L.Cargill, P.Montgomery, D.Martin & J.Jamison, 1998. **Efficacy of postemergent herbicides for Scotch thistle (*Onopordum acanthium*), control along roadsides in Oklahoma**, *Proceedings of the Southern Weed Science Society* 51: 192.
- [36] L.Mucina, 1989, **Syntaxonomy of the *Onopordum acanthium* communities in temperate and continental Europe**, *Vegetatio* 81:107-115.
- [37] J.Young & R.Evans, 1969, **Control and ecological studies of Scotch thistle**, *Weed Science* 17:60-63.
- [38] R.Groves, J.Burdon & P.Kaye, 1990, **Demography and genetics of *Onopordum* in southern New South Wales**, *Journal of Ecology* 78:47-55.
- [39] J.Young & R.Evans, 1972, **Germination and persistence of achenes of Scotch thistle**, *Weed Science* 20:98-101.
- [40] T.Briese, D.Lane, B.Hyde-Wyatt, J.Crocker & R.Diver, 1990, **Distribution of the thistles of the genus *Onopordum* in Australia**, *Plant Protection Quarterly* 5:23-27.

- [41] B.Briese, A.Sheppard & J.Reifenberg, 1995, **Open-field host-specificity testing for potential biological control agents of *Onopordum* thistles**, *Biological Control: Theory and Applications in Pest Management* 5:158-166.
- [42] S.Davidson, 1990, **Goats help eliminate thistles**, *Rural Research: A CSIRO Quarterly Winter*:16-19.
- [43] F.Forcella & H.Wood, 1986, **Sequential flowering of thistles (Cynareae, Asteraceae) in southern Australia**, *Australian Journal of Botany* 34:455-461.
- [44] C.Hitchcock, A.Cronquist, M.Ownbey & J.Thompson, 1955, **Vascular Plants of the Pacific Northwest, Volume 5: Compositae**, University of Washington Press, Seattle.
- [45] D.Joley, D.Woods & M.Pitcairn, 1998, **Field studies to examine growth habit and population resurgence of Scotch thistle in northern California**, CDFA Biological Control Program: Annual Report, California Department of Food and Agriculture web page.
- [46] H.Roberts & R.Chancellor, 1979, **Periodicity of seedling emergence and achene survival in some species of *Carduus*, *Cirsium*, and *Onopordum***, *Journal of Applied Ecology* 16:641-647.
- [47] H.Smith, W.Johnson, J.Shonkwiler & R.Swanson, 1999, **The implications of variable or constant expansion rates in invasive weed infestations**, *Weed Science* 47:62-66.
- [48] J.Wilson, G.Rapson, M.Sykes, A.Watkins & A.Williams, 1992, **Distributions and climatic correlations of some exotic species along roadsides in South Island, New Zealand**, *Journal of Biogeography* 19:183-194.
- [49] R.Belhatab, L.Larous, G.Kalantzakis, D.Bouskou & V.Exarchou, 2004, **Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf, extracts**, *Food, Agricul, & Envir*: 63-69.
- [50] B.Patrick, Ljean & S.Michel, 1988, **Bactériologie : Les bactéries des infections humaines**, 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion, Paris, pp: 100-108-274.
- [51] P.Steven, C.Rachel, E.Martha, H.Paul, S.Jane & J.Peter, 2004, **Microbiology of Waterborne Diseases**, Ed Elsevier Academic Press. pp71-132.
- [52] C.Richard et M.Kiredjian, 1995, **Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Brucelle*, *Bordetella***, 2ème édition, Ed Institut, Pasteur, Paris, pp: 42-43.

- [53] M.Medjbar, A.Bouyoucef, T.Benayad, K.Zerrouki, 2008, **Caractérisation des salmonelles dans les tueries avicole de la wilaya de Blida**, Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie. Pp : 158-161.
- [54] A.Sokmen, M.Gulluce, H.Askin-Akpulat, D.Daferera, B.Tepe, M.Polissiou, M.Sokmen & F.Sahin, 2004, **The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *O.acanthium***, Food Control 2004; 15: 627-634.
- [55] B.Ngameni, V.Kuete, K.SimoI, A.Mbaveng, P.Awoussong, R.Patnam, R.Roy, B.Ngadjui, 2009, **Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *Dorstenia turbinata*(Moraceae)**, S.Afr, J.Bot.75:256–261.
- [56] C.Mutani, C.Bii, C.Vagias, D.Abatis, V.Roussis, 2009, **Antimicrobial activity of *O.acantium* extract and lupane triterpenes**, Journal of Ethnopharmacology, doi : 10.1016/j.jep.02.007.
- [57] R.Bakhta, 2013, **Extraction des flavonoïdes de la plante *Inula viscosa* de la région d'oran et mise en évidence de l'activité microbienne**. Mémoire de magistère, Laboratoire de synthèse organique appliquée école doctorale chimie moléculaire et biomoléculaire.
- [58] Soumia, 2012, **Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus***, Mémoire de magistere, Département de Biochimie, Université Ferhat Abbas-Setif.
- [59] A.Chbani, H.Mawlawi et S.Etahiri, 2011, **Évaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *Padina pavonica*, récoltée sur les côtes libanaises**. Afrique SCIENCE 07(3) 91 – 96 ISSN 1813-548X.
- [60] A.ysef, N.Sarac and M.Emin, 2011, **Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Endemic *Onopordum caricum***, Middle-East Journal of Scientific Research 8 (3): 594-598,ISSN 1990-9233.
- [61] Z.Khadijeh, H.Nazemyeh, F.Lotfipour, S.Farabi, M.Ghiamirad et A.Barzegari, 2014, **Antibacterial Activity and Total Phenolic Content of the *Onopordon acanthium*, Seeds**. Pharmaceutical sciences, 6-11.
- [62] B.Noureddine et A.Omar, 2014, **Contribution à l'étude de l'activité biologique d'une espèce du genre *Rata* de Diebel Tessala (Algérie occidentale) et à la faisabilité d'un Plan**

de conservation, Memoire de magister, Département d'Agro – Foresterie, Université de Telemecen.

[63] Y.Gao, V.Belkum, M.Stiles, 1999, **The outer membrane of Gramnegative bacteria inhibits antibacterial activity of brochocin-C.** Appl Environ Microbiol, 65:4329-4333.

[64] H.Nazemiyeh, M.Rahman, S.Gibbons, L.Nahar, A.Delazar, M.Ghahramani et al.2008, **Assessment of the antibacterial activity of phenylethanoid glycosides from Phlomis lanceolata against multiple-drug-resistant strains of *Staphylococcus aureus*,** J.Nat Med 67-01-05

[65] A.Kumaran et R.Karunakaran, 2007, ***In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India,** LWT Food Sci Technol, 40:344-352.]

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Onopordum acanthium*, une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle de l'Algérie, appartenant à la famille des *Asteraceae*, cette espèce connue sous le nom de «chardon aux ânes».

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur 6 souches bactériennes (Gram+ et Gram-) selon la méthode de diffusion de disque. L'extrait méthanolique de *O.acanthium* dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) induisant des diamètres d'inhibition de croissance de 25, 23,17,12,11 et 10 mm sur *S. aureus* ATCC 25923 , *P.mirabilis* , *E.coli*, *S.aureus* ATCC 43300, *Salmonella* et *P.aeruginosa* respectivement, alors que pour L'extrait méthanolique dissous dans le méthanol, Aucune zone d'inhibition n'a été observée autours des disques. En conclusion, l'extrait méthanolique de *Onopordum acanthium* dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) possède une excellente activité antibactérienne.

Mots clés : *Asteraceae*, *Onopordum acanthium*, extraits méthanolique, activité antimicrobienne.

The objective of this study was to evaluate the antibacterial activity of the methanol extract of the aerial part of *Onopordum acanthium*, a medicinal plant of traditional medicine of Algeria, belonging to the *Asteraceae* family, this species known as the "thistle donkeys."

The antimicrobial activity was determined on 6 bacterial strains (gram positive and gram negative) according to the disk diffusion method. *O.acanthium* methanolic extract dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) induces inhibition zone diameters of growth 25, 23,17,12,11 and 10 mm on *S. aureus* ATCC 25923, *P.mirabilis*, *E.coli*, *S.aureus* ATCC 43300, *Salmonella* and *P.aeruginosa* respectively, whereas for the methanol extract dissolved in methanol, No zone of inhibition was observed goshawks discs.

The methanol extract of *Onopordum acanthium* dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) has excellent antibacterial activity.

Key words: *Asteraceae* -*Onopordum acanthium* -methanol extracts -antimicrobial activity

FERROUDJ Besma
BAGHLACHE Noura

Date de soutenance

Diplôme : Master académique en Microbiologie

Thème : Etude De l'activité Antibactérienne Des Tiges d'une Plante Médicinale
Onopordum acanthium

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *l'Onopordum acanthium*, une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle de l'Algérie, appartenant à la famille des *Astéraceae*, cette espèce connue sous le nom de «chardon aux ânes».

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur 6 souches bactériennes (Gram+ et Gram-) selon la méthode de diffusion de disque. L'extrait méthanolique de *O.acanthium* dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) induisant des diamètres d'inhibition de croissance de 25, 23,17,12,11 et 10 mm sur *S. aureus* ATCC 25923 , *P.mirabilis* , *E.coli*, *S.aureus* ATCC 43300, *Salmonella* et *P.aeruginosa* respectivement, alors que pour L'extrait méthanolique dissous dans le méthanol, Aucune zone d'inhibition n'a été observée autours des disques. En conclusion, l'extrait méthanolique de *l'Onopordum acanthium* dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) possède une excellente activité antibactérienne.

Mots clés : *Asteraceae*, *Onopordum acanthium*, extraits méthanolique, activité antimicrobienne.

Promotrice: M^{eme} KHEDDOUMA A. (MAA) Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Devant le Jury

Président : M. HABIBATENI S. (MAA) Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Examinatrice: M^{eme} DEROUICHE F. (MAA) Univ. Abbès Laghrour - Khenchela