

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
ECOLE NORMALE SUPERIEURE
DEPARTEMENT DE SCIENCES
BIOLOGIQUES



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCES

ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES DES EXTRAITS ORGANIQUES De *Oxalis barrelieri* L.(Oxalidaceae)

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme des professeurs de
l'enseignement secondaire deuxième grade (Di.P.E.S II)

Par :

KANA Miriam Flore

Licencié es sciences, Option biologie des organismes animaux

Sous la direction
Dr ZONDEGOUNBA Ernestine
Chargé de cours



Année Académique
2015-2016



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire de Yaoundé I. Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : biblio.centrale.uyi@gmail.com

WARNING

This document is the fruit of an intense hard work defended and accepted before a jury and made available to the entire University of Yaounde I community. All intellectual property rights are reserved to the author. This implies proper citation and referencing when using this document.

On the other hand, any unlawful act, plagiarism, unauthorized duplication will lead to Penal pursuits.

Contact: biblio.centrale.uyi@gmail.com

À

Mes parents

Totedjou Samuel Et Njuika Alphonsine

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont cordialement :

à Dieu, le père tout puissant ;

au Docteur **Ernestine ZONDEGOUMBA** pour avoir bien voulu encadrer et diriger ce travail scientifique malgré ses multiples occupations académiques ;

au Docteur **Christophe MEZUI**, chargé de cours, qui malgré ses multiples occupations académiques s'est impliqué de très près dans la direction de ce travail ;

au Professeur **Bonaventure SONKE**, Chef de Département des Sciences Biologiques, pour le confort académique qu'il nous a assuré durant notre formation ;

aux Enseignants du Département des Sciences Biologiques pour les connaissances mises à notre disposition ;

aux laboratoires : de Physiologie animale de l'ENS, de Chimie Médicinale de l'UY1 et de Molecular Biology Center de NGOUSSO ;

à monsieur **NOTEDJI Augustin**, Technicien de laboratoire de Molecular Biology Center de NGOUSSO, pour son accueil, sa gentillesse et les connaissances qu'il nous a transmis ;

à mon co-stagiaire **THINDA Serge**, mes camarades de laboratoire: **FOUMAN Mermose**, **GOUNOU Xavier**, **TOUON Patrice**, **TANKOUA Whistler** et **EDZENTE Guy Vinsent** pour leur conseil, leur collaboration et les échanges fructueux ;

à tous mes camarades de promotion 2014-2016, de l'ENS pour leur soutien et pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble ;

à mes amis de l'ENS **GUIANENG Judith**, **FANDO Liliane** et **FAHA RODRIGUE** pour leur assistance permanent ;

à mes amis de la Faculté des Sciences de l'UYI **ADJOU Nelly**, **PAMBA Léa**, **OPODO Jacqueline**, **POUGA Sandra**, **SETCHEU Stéphanie** et **TEBAYA Romaric** pour leur bonne humeur et les moments inoubliables qu'ils m'ont permis de partager ;

à mes frères **DJIAGNI Eric** et **WAMBA célestin** pour leur soutien financier inconditionnel, matériel, leurs conseils et leurs encouragements ;

à mes grandes sœurs **TIOMO Brigitte**, **NOUTAZA Caroline** et **les enfants** pour leur soutien, leur amour inconditionnel ;

à mon oncle **BOGNIN Théophile** pour son amour, sa générosité, son aide moral et matériel ;

à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

TABLE DE MATIÈRE

| | |
|---|-----------------------------|
| DÉDICACE..... | Erreur ! Signet non défini. |
| REMERCIEMENTS | iii |
| TABLE DE MATIERE | iv |
| ABSTRACT | viii |
| LISTE DES ABRÉVIATIONS | ix |
| LISTE DES FIGURES | x |
| LISTE DES TABLEAUX..... | xi |
| INTRODUCTION..... | 1 |
| CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE..... | 2 |
| I-1-GÉNÉRALITES SUR LA PLANTE | 3 |
| I-1-1-Botanique..... | 3 |
| I.1.2.Position systématique de <i>Oxalis barrelieri</i> | 3 |
| I-1-3- Écologie | 4 |
| I-1-4-Vertus ethnobotaniques et pharmacologiques | 4 |
| I-1-5-Phytochimie de <i>Oxalis barrelieri</i> | 4 |
| I-2-GÉNÉRALITÉS SUR LES BACTÉRIES | 5 |
| I-2-1-Caractères généraux des bactéries | 5 |
| I-2-2-Structures des bactéries | 5 |
| I-2-2-1- Structures externes | 6 |
| I-2-2-2- Structures internes | 7 |
| I-2-3-Physiologie bactérienne | 9 |
| I-2-3-1- Nutrition bactérienne..... | 9 |
| I-2-3-2- Croissance bactérienne | 9 |
| I-2-3-3- Reproduction bactérienne..... | 9 |

| | |
|--|------------------------------------|
| I-2-3-4-Recombinaison bactérienne..... | 9 |
| I-2-4-Espèces bactériennes utilisées | 10 |
| I-2-4-1- <i>Éscherichia Coli</i> | 10 |
| I-2-4-2- <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 11 |
| I-2-4-3- Entérobactéries | 12 |
| I-2-5- Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne | 12 |
| I-2-5-1- Méthodes de diffusion en milieu solide. | 13 |
| I-2-5-2-Méthodes de dilution en milieu liquide..... | 13 |
| I-2-6-Infections bactériennes | 13 |
| I-2-6-1- Pouvoir pathogène des bactéries | 13 |
| I-2-6-2-Processus de déroulement de l'infection bactérienne..... | 14 |
| I-2-6-3-Étapes de l'infection bactérienne | 14 |
| I-2-6-4-Diagnostique des infections bactériennes..... | 15 |
| I-2-6-5-Substances antibactériennes | 15 |
| I-2-6-6-Resistance bactérienne | 18 |
| I-3-Biomolécules issues des plantes médicinales..... | 20 |
| I-3-1 -Composés terpéniques et huiles essentielles | 21 |
| I-3-2- Composés phénoliques | 21 |
| I-3-3- Phénols simples et acides-phénols..... | 22 |
| I-3-4- Coumarines | 22 |
| I-3-5- Flavonoïdes..... | 22 |
| I-3-6-Tannins | 23 |
| I-3-7-Quinones | 24 |
| I-3-8-Alcaloïdes | 24 |
| I-4-MÉTHODES D'EXTRACTION | 25 |
| CHCHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES | 26 |
| II-MATÉRIEL ET MÉTHODES | Erreur ! Signet non défini. |

| | |
|--|----|
| II-1-RÉCOLTE ET IDENTIFICATION DE LA PLANTE | 27 |
| II-2- ESSAI D'EXTRACTION | 27 |
| II-3- MACÉRATION AVEC LE MÉLANGE CHLORURE DE MÉTHYLÈNE/MÉTHANOL (1/1) | 27 |
| II-4- MACÉRATION AVEC LE MÉTHANOL PUR | 29 |
| II-5-TESTS PHYCHOCHIMIQUES | 30 |
| II-5-1-Test des triterpènes..... | 30 |
| II-5-2-Test aux flavonoïdes..... | 31 |
| II-5-3-Test aux phénols | 31 |
| II-5-4-Test des tannins | 31 |
| II-5-5-Test des saponines | 31 |
| II-5-6-Test des alcaloïdes..... | 32 |
| II-5-7-Test des lipides | 32 |
| II-6-RÉALISATION DES TESTS BIOLOGIQUES | 32 |
| II-6-1- Réalisation de l'antibiogramme : relation concentration-activité | 32 |
| II-6-1-1- Culture des souches bactériennes..... | 32 |
| II-6-1-2- Préparation de l'inoculum..... | 32 |
| II-6-1-3- Préparation de la solution mère de l'extrait et de l'antibiotique de référence ... | 33 |
| II-6-2-Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) | 33 |
| CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION | 35 |
| III-1-RÉSULTATS | 36 |
| III-1-1-Résultats des essais d'extraction..... | 36 |
| III-1-2-Rendement d'extraction de nos deux extraits organiques..... | 36 |
| III-1-3-Criblage phytochimique..... | 37 |
| III-1-4- Essais antibactériens | 38 |
| III-1-4-1 Évaluation des CMI | 39 |
| III-1-4-2 Étude de la sensibilité des bactéries à l'antibiotique de référence : antibiogramme | 41 |

| | |
|--|----|
| III-2-DISCUSSION | 42 |
| CHAPITRE IV : INTÉRÊT DIDACTIQUE..... | 44 |
| IV-1-DÉFINITION DES CONCEPTS..... | 45 |
| IV-2-INTÉRÊT DIDACTIQUE DE LA LEÇON..... | 45 |
| IV-3-IMPORTANCE DE LA PRÉPARATION DE LA LEÇON DE SVT | 45 |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES | 60 |
| CONCLUSION | 61 |
| PERSPECTIVES..... | 61 |
| BIBLIOGRAPHIE | 62 |
| ANNEXES | 67 |

ABSTRACT

The research of molecules with bactericidal activity is always current event with increase of multi resistance. In traditional medicine, plants are use without knowing the molecules responsible of the desire effect. *Oxalis barrelieri* for example is use in the treatment of gastric ulcers. This study aims to identify the various families of chemical compounds contained in the plant *Oxalis barrelieri* and tits antibacterial effects on five bacterial strains (*Enterobacter BM67*, *Escherichia coli ATCC8739*, *Enterobacteraerogenes ATCC13048*, *Klebsiella pneumonia ATCC11296*, *Enterobacter cloacae K2*) were carried out. With the various tests of solubility means, carried out by Thin Layer Chromatography (TLC), two solvents with knowing mixture of solvent methanol/methylene chloride (1/1) and methanol were regarded as better solvents of extraction of the plant; thereafter, 1000g of powder of *Oxalis barrelieri* was extracted by maceration successively with methanol/chloride methylene (1/1) and with methanol to afford 12,7g and 2,18g of extracts from 1, 27% and 0, 22% yields respectively. These extracts were subjected to the phytochemical screening tests and the results showed the richness of both extracts in triterpenes, phenols, tanins, saponins, and lipids, and their absence in alkaloids; the extract with methanol was quite rich in flavonoïdes while the extract with the methanol mixture/methylene chloride (1/1) didn't possess any at all. The antimicrobial activities tests of the two extracts were carried out on the five strains of bacteria named above by the method of diffusion on gélose Muller-Hinton, with ciprofloxacin as reference. The results showed that these extracts do not inhibit the growth of all the bacterias tested; thus its empirical use for the treatment of gastric ulcers is not link to a bactericidal effect.

Keywords: *Oxalis barrelieri*, Phytochemic Screening, antimicrobial Activity, Organic Extracts, Family of chemical compounds.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

| | |
|------------------------|--------------------------------------|
| ARN | : Acide désoxyribonucléique |
| ADN | : Acide ribonucléique |
| THF | : Tétrahydrofolate |
| DHF | : Dihydrofolate |
| ARN_m | : ARN messenger |
| ARN_t | : ARN de transfert |
| ATCC | : American type culture collection. |
| CMI | : Concentration Minimale Inhibitrice |
| DHF | : Dihydrofolate |
| DMSO | : Diméthylsulfoxyde |
| G | : gramme |
| HNC | : Herbier National du Cameroun |
| MHA | : Mueller Hinton Agar |
| MHB | : Mueller Hinton Broth |
| OMS | : Organisation Mondiale de la Santé |
| UFC | : Unité Formant Colonie |
| UV | : Ultra-violet |
| UY1 | : Université de Yaoundé 1 |
| Mg | : Milligramme |
| µl | : Microlitre |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1. <i>Oxalis barrelieri</i> | 3 |
| Figure 2.Principales formes des bactéries | 5 |
| Figure 3.Schéma de la cellule bactérienne typique..... | 6 |
| Figure 4. Cycle d'une endospore bactérienne | 8 |
| Figure 5. Schéma d'une membrane plasmique typique des bactéries..... | 8 |
| Figure 6.Schéma de la recombinaison bactérienne | 10 |
| Figure 7.Exemple d'adhérence d'un microbe à une cellule cible | 11 |
| Figure 8. Mode d'action des agents majeurs chimiothérapeutiques antibactériens | 18 |
| Figure 9. Composés terpéniques | 21 |
| Figure10. Phénols simples et acides-phénols..... | 22 |
| Figure 11. Coumarine..... | 22 |
| Figure 12.Structure de base des flavonoïdes..... | 23 |
| Figure 13.Structure des tannins..... | 23 |
| Figure14. Structure de quinones..... | 24 |
| Figure 15.Structure des Alcaloïdes | 24 |
| Figure 16. Photo de l'évaporateur rotatif | 28 |
| Figure 17. Protocole de préparation de l'extrait organique de <i>Oxalis barrelieri</i> par le mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) | 29 |
| Figure 18. Protocole de préparation de l'extrait organique de <i>Oxalis barrelieri</i> par le méthanol pur | 30 |
| Figure 19. Illustration de l'utilisation d'une plaque de microtitration pour la détermination des CMI des différents extraits | 34 |
| Figure 20. Chromatogramme | 36 |
| Figure 21. Plaque de microtitration..... | 39 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau1. Les différentes familles d'antibiotiques: activité, mécanismes d'action et de résistance | 17 |
| Tableau 2. Mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques | 20 |
| Tableau 3. Rendement d'extraction | 37 |
| Tableau4. Analyse phytochimique (qualitative) de quelques métabolites secondaires desextraits organiques | 38 |
| Tableau5. Effet de l'extrait de <i>Oxalis barrelieri</i> au chlorure de méthylène/méthanol (1 /1) sur la croissance bactérienne à différentes concentrations..... | 40 |
| Tableau6. Effet de l'extrait de <i>Oxalis barrelieri</i> au méthanol sur la croissance bactérienne à différentes concentrations..... | 40 |
| Tableau7.Activité (CMI) de la Ciprofloxacine sur les 5 souches bactériennes | 41 |

INTRODUCTION

La lutte pour une bonne santé a toujours été au centre des préoccupations de l'Homme car dans son environnement, il existe de nombreuses maladies dues aux microbes auxquelles il est exposé. Ces derniers existent sous plusieurs catégories: les protozoaires, les bactéries, les virus et autres.

Face à ces maladies dues aux microbes, l'une des stratégies de lutte utilisées est celle d'explorer les plantes (Biyiti 2004) elles sont accessibles et sont peu coûteuses (OMS 2002); en outre, certaines bactéries sont très résistantes aux antibiotiques (Madigan & Martinko 2007). Un grand nombre de plantes possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent leurs applications dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et en agriculture (Hamidi2013). Cependant, l'évaluation de leur composition chimique et de leurs propriétés biologiques demeure une tâche très intéressante et utile, car ces plantes représentent une source nouvelle de composés bioactifs (Hamidi2013). C'est dans ce cadre que la plante médicinale camerounaise *Oxalis barrelieri*, a été choisie.

Ce travail vise à valoriser les plantes médicinales, en particulier *Oxalis barrelieri*, dans le but de confirmer son usage traditionnel.

Pour atteindre cet objectif général, nous avons axé notre travail sur les points suivants :

- collecte et séchage de la plante, suivie d'un test de solubilité pour choisir deux solvants qui extraient le maximum de composés dans *Oxalis barrelieri* ;
- extraction au mélange méthanol chlorure de méthylène d'une part, et au méthanol pur d'autre part, pour obtenir des extraits organiques ;
- réalisation des tests phytochimiques pour identifier les métabolites secondaires présents dans chaque extrait ;
- réalisation des tests biologiques sur cinq souches bactériennes multi résistantes (*Enterobacter BM67*, *Escherichia coli ATCC8739*, *Enterobacter aérogènes ATCC13048*, *Klebsiella pneumonia ATCC11296*, *Enterobacter cloacae K2*) pour déterminer l'effet antibactérien de *Oxalis barrelieri*.

Le présent manuscrit qui résume l'essentiel de notre travail s'articule autour de quatre chapitres :

- Revue de la littérature ;
- Présentation du Matériel et Méthodes utilisés ;
- Résultats et discussions et ;
- Intérêt didactique.
- Conclusion et perspectives

CHAPITRE I :
REVUE DE LA
LITTÉRATURE

I-1-GÉNÉRALITES SUR LA PLANTE

I-1-1-Botanique

Oxalis barrelieri est une plante herbacée rudérale annuelle dressée, pouvant atteindre 60 cm de hauteur et que l'on rencontre sur les sols sableux et secs. Elle a des feuilles alternes (les supérieures presque opposées) ; un limbe trifoliolé à folioles ovées, des inflorescences en cymes axillaires, et des fleurs à sépales linéaires aux corolles blanches ou rosées. Elle est recouverte de poils blanchâtres, parfois rares, mais apparents sur les tiges. Ses fruits sont des capsules oblongues à 5 angles aigus, avec 2-4 graines par loge. *Oxalis barrelieri* est localement appelée oseille-savane, oseille-marron, trèfle, pâte dentifrice (Cirad 2007).



A : Plante entière

B : fleurs

C : Feuilles

Figure1. *Oxalis barrelieri* (Photo Kana en 2016) à l'UY1

I.1.2.Position systématique de *Oxalis barrelieri*

| | |
|-----------------|--|
| Règne : | Plantae |
| Sous-règne : | Tracheobionta |
| Super division: | Spermatophyta |
| Division : | Magnoliopyta |
| Classe : | Magnoliopsida |
| Sous classe : | Rosidae |
| Ordre : | Geraniale |
| Famille : | Oxalidaceae |
| Genre : | <i>Oxalis</i> |
| Espèce : | <i>Oxalis barrelieri</i> (Cirad 2007) |

I-1-3- Écologie

Oxalis barrelieri est originaire des Antilles, de l'Amérique Centrale et l'Amérique du Sud (Smith 1985). Elle a été introduite dans certaines régions d'Afrique, de Ceylan, et Malaisie (Smith 1985). Elle est considérée comme une mauvaise herbe dans les îles Mariannes (Smith 1985). On la rencontre en Venezuela, Amazonie, Bolivie, Guyane, Martinique, Guadeloupe, Polésie, Guinée, Cameroun et bien d'autres.

I-1-4-Vertus ethnobotaniques et pharmacologiques

Toutes les parties de cette plante sont utilisées dans la médecine locale. La décoction de *Oxalis barrelieri* (plante entière) est utilisée pour le traitement de la diarrhée (Tagne *et al.* 2015), de l'hypertension artérielle (Tanah 2010) et de la toux. *Oxalis barrelieri* est une plante anorexiant consommée en chine sous forme de salades et est également utilisée pour traiter le diabète car elle a des propriétés hypoglycémiantes (Enock 2006). Selon les naturopathes, cette plante possède des capacités antiulcéreuses.

Les feuilles de *Oxalis barrelieri* contiennent de l'acide oxalique, qui leur donne une saveur piquante ; ceci explique pourquoi les feuilles ne doivent pas être consommées en grandes quantités. La quantité d'acide oxalique sera réduite si les feuilles sont cuites. Les personnes ayant une tendance aux rhumatismes, l'arthrite, la goutte, les calculs rénaux ou hyperacidité devraient prendre des précautions particulières car cette plante dans leur alimentation peut aggraver leur état de santé (Bais *et al.* 2002).

Les travaux réalisés par Londapeu (2015) sur les actions anti-sécrétoires de *Oxalis barrelieri* ont montré que l'extrait aqueux administré par voie orale à la dose de 200mg /kg entraîne une baisse significative de l'acidité du suc gastrique, réduit la surface ulcérée et l'indice d'ulcère.

En médecine traditionnelle indienne, *Oxalis barrelieri* est utilisé comme anti-inflammatoire, digestif, diurétique, et antiseptique. Elle contribue à l'étude du traitement de la malaria et de la blennorragie au Zaïre (Funk *et al.* 2007).

I-1-5-Phytochimie de *Oxalis barrelieri*

L'étude phytochimique de l'extrait aqueux de *Oxalis barrelieri* a révélé la présence des composés suivants : phénols, terpénoides anthocyanidines, anthraquinones, coumarines, saponines, lipides, huiles volatiles et traces d'alcaloïdes (Tagne *et al.* 2015).

I-2-GÉNÉRALITÉS SUR LES BACTÉRIES

I-2-1-Caractères généraux des bactéries

Les bactéries sont des procaryotes à structure cellulaire très simples, sans noyau organisé ni de chloroplastes. Leur photosynthèse est anaérobie. L'énergie nécessaire à leur métabolisme est fournie par des réactions d'oxydoréduction des substances organiques. Les bactéries ont des aspects négatifs : parasites pathogènes et des aspects positifs : fermentations, décomposition de la matière organique et fixation de l'azote atmosphérique. On classifie les bactéries en trois formes (Larpen & Gourgaud 1985):

- Les formes sphériques ou ovales : les cocci (ou coques)
- Les formes allongées (en bâtonnet) : les bacilles
- Les formes spiralées : les spiridilles



Figure2.Principales formes des bactéries([http://www.les beaux jardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bacteries.htm](http://www.les.beauxjardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bacteries.htm))

I-2-2-Structures des bactéries

Les bactéries sont constituées de deux groupes d'éléments :
Les éléments obligatoires : le cytoplasme, la membrane plasmique la paroi et le matériel génétique. Les éléments facultatifs : la capsule, les flagelles, les pili et les spores.

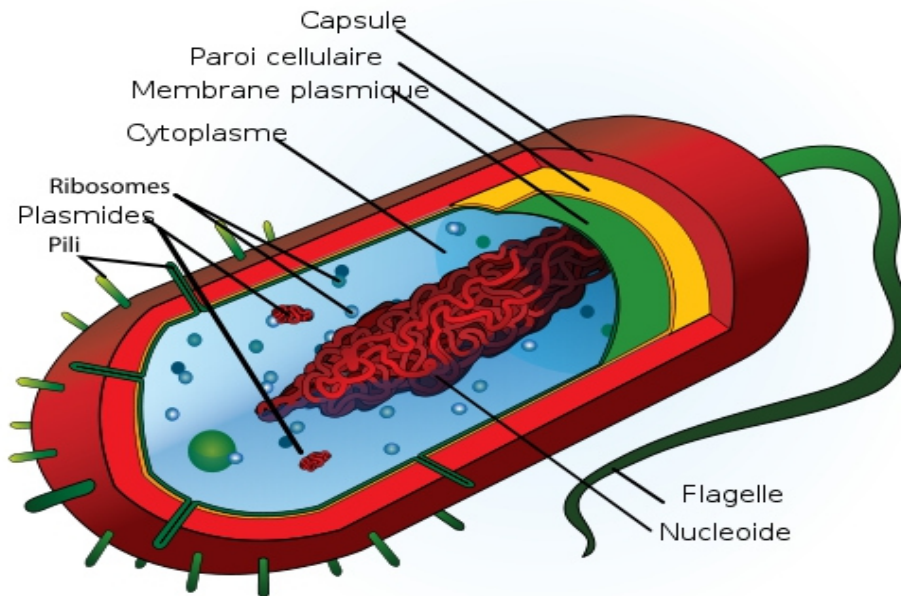


Figure3. Cellule bactérienne typique (Bassez 2010).

Certaines bactéries à l'exemple des bactéries *Gram+* peuvent même vivre dans des conditions extrêmes, devenant capables de croître à partir des molécules soufrées qui composent leur environnement, de méthane ou d'hydrogène. Ceci grâce aux molécules de résistances qu'elles possèdent telles que les acides teïcoïques et les acides lipoteïcoïques ; en outre, elles ont une paroi épais et homogène contrairement aux bactéries Gram négatives.

I-2-2-1- Structures externes

➤ Paroi cellulaire

La paroi cellulaire est une enveloppe rigide plus ou moins épaisse présente chez toutes les bactéries. Elle constitue le squelette externe et est responsable de la forme de celle-ci. La bactérie étant très riche en solutés, sa pression osmotique interne est très élevée. La paroi évite donc l'éclatement de la cellule (Baron 1996, Larpent & Gourgaud 1985).

➤ Capsule

La capsule est une substance visqueuse, plus ou moins épaisse qui entoure la paroi. Elle permet à la bactérie d'adhérer plus facilement aux autres êtres vivants tout en la protégeant de la phagocytose (Larpent & Gourgaud 1985).

➤ Flagelles

Les flagelles sont des filaments longs et très fins servant au déplacement de plusieurs sortes de bactéries. Le nombre et la position des flagelles constituent un critère de classification des bactéries à flagelles (Larpent & Gourgaud 1985).

➤ **Pili**

Les pili sont des filaments relativement courts possédés par beaucoup de types de bactéries. Il y a les pili communs, rigides et servant de moyen de fixation à différentes surfaces, d'où la bactérie peut tirer sa nourriture. Les pili sexuels servent au transfert de matériel génétique entre bactéries au cours d'un processus appelé conjugaison (Larpen & Gourgaud 1985).

I-2-2-2- Structures internes

➤ **Appareil nucléaire**

L'appareil nucléaire (matériel nucléaire) a la forme d'une ou de quelques régions claires dans le cytoplasme. Il représente le matériel génétique de la bactérie qui est formé d'un seul chromosome en forme d'anneau([http://www.les beaux jardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bactéries](http://www.les-beaux-jardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bactéries)).

➤ **Mesosome**

Le mésosome est une structure cytoplasmique dense qui constitue un prolongement de la membrane cytoplasmique. Il participe à la séparation du matériel nucléaire au cours de la division cellulaire. De plus il intervient dans la formation de la paroi transversale qui sépare les cellules filles après la division cellulaire ([http://www.les beaux jardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bactéries](http://www.les-beaux-jardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bactéries)).

➤ **Ribosomes**

Les ribosomes sont de très fines granulations servant à la synthèse des protéines bactériennes([http://www.les beaux jardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bactéries](http://www.les-beaux-jardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bactéries)).

➤ **Endospores**

Les endospores sont des structures formées par les bactéries quand les conditions leur sont défavorables. Ces structures à paroi épaisse et résistante renferment du matériel génétique ainsi qu'un peu de cytoplasme. Elles sont très résistantes aux températures extrêmes, à la déshydratation, à différentes substances chimiques, aux radiations et à différents antibiotiques et antiseptiques (Maurice 2008).

Cycle sporal

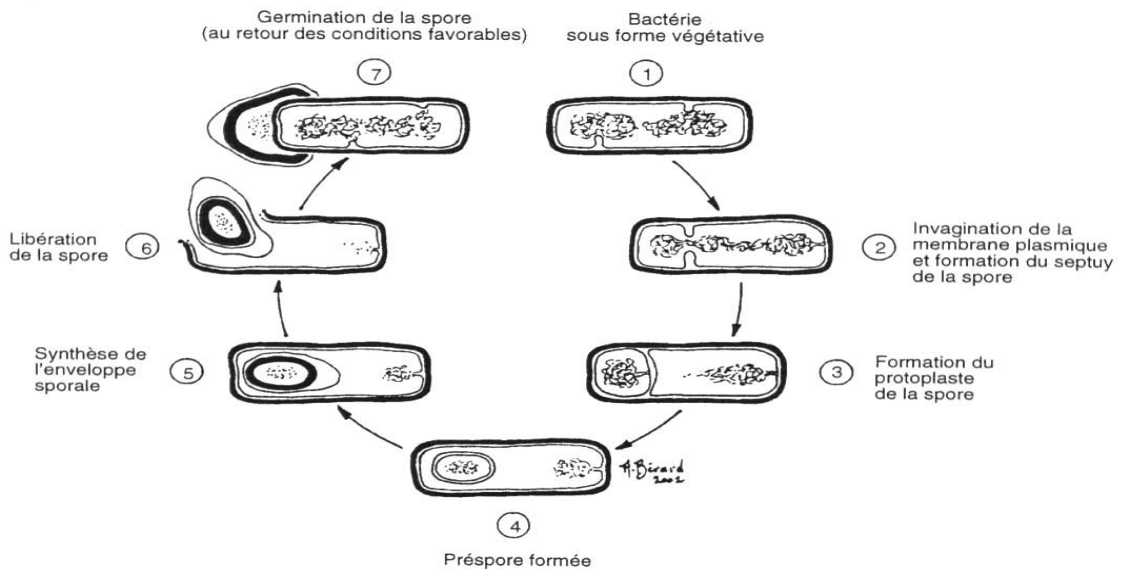


Figure 4. Cycle d'une endospore bactérienne (Maurice 2008)

➤ **Membrane plasmique**

La membrane plasmique semi-perméable contrôle l'entrée et la sortie de différentes substances. Le passage des substances à travers la membrane s'effectue par diffusion, osmose et transport actif. Il est à noter qu'une bactérie ne possède pas de noyau, de centriole, de réticulum endoplasmique, de mitochondries, d'appareil de Golgi et de lysosomes (pebret 2003).

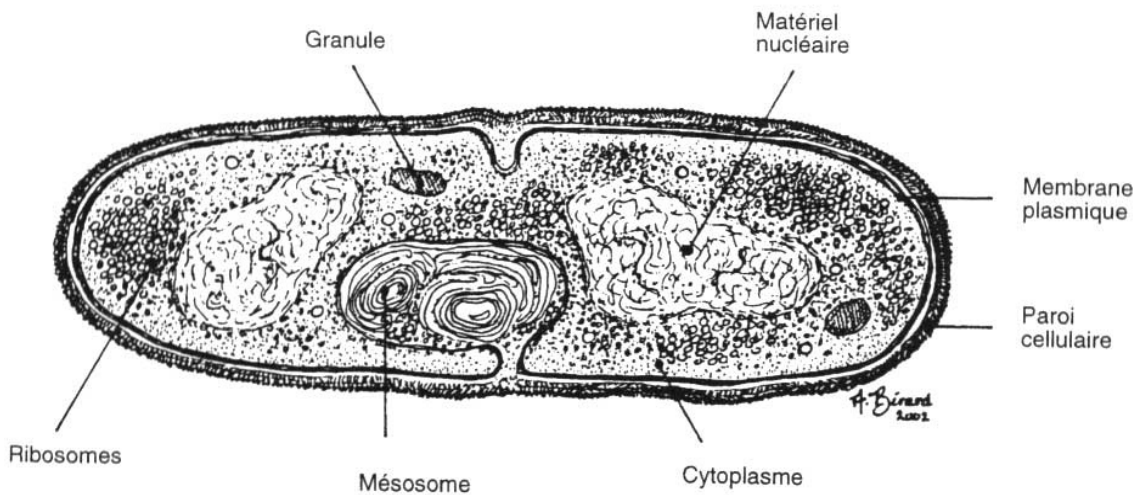


Figure5. Membrane plasmique typique des bactéries(<http://www.les-beaux-jardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bacteries.htm>).

I-2-3-Physiologie bactérienne

I-2-3-1- Nutrition bactérienne

C'est à partir de substances organiques simples (acides aminés, glucides, acides gras, vitamines, hydrocarbures, etc.) et de certaines substances inorganiques (phosphates, soufre, nitrates, etc.) que les bactéries se nourrissent. Plusieurs types de bactéries sécrètent des enzymes digestives qui leurs permettent d'absorber certains constituants alimentaires plus ou moins complexes (<http://www.les-beaux-jardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bacteries.htm>).

I-2-3-2- Croissance bactérienne

La croissance bactérienne correspond à l'accroissement du nombre de bactéries et non à l'augmentation de la taille d'une bactérie. On mesure l'accroissement d'une population bactérienne à partir du calcul du temps de génération, correspondant au temps nécessaire au doublement d'une population ou au temps de vie moyen d'une génération de bactéries. La croissance des bactéries est influencée par différentes conditions physico-chimiques du milieu. Les facteurs qui influencent le plus cette croissance sont l'humidité, la température, l'oxygène et le Ph (Singleton & Sainsbury 1990).

I-2-3-3- Reproduction bactérienne

La reproduction bactérienne se fait de façon asexuée selon un mode de division cellulaire appelée fission binaire (ou scissiparité). Les principales caractéristiques de ce mode de reproduction sont :

- Augmentation de la taille de la bactérie ;
- Dédoublment du matériel génétique, puis séparation de ce matériel en deux parties égales;
- Formation d'une paroi transversale avec l'aide du mésosome ;
- Séparation de la cellule mère en deux cellules filles (Baudry & Brezellec 2006).

I-2-3-4-Recombinaison bactérienne

La recombinaison bactérienne est un processus résultant du transfert de gènes d'une bactérie à l'autre. Le transfert de gènes se fait toujours dans une seule direction. Il existe trois types de transfert de gènes.

- La conjugaison est le transfert à l'aide de pili sexuels.

- La transformation est le transfert d'un fragment d'ADN libéré à la suite de la lyse de la bactérie.

- La transduction est le transfert de gènes d'une bactérie à l'autre par l'intermédiaire d'un virus bactériophage (<http://www.les.beaux.jardins.com/cours/botanique/3procaryotes/bactéries.htm>).

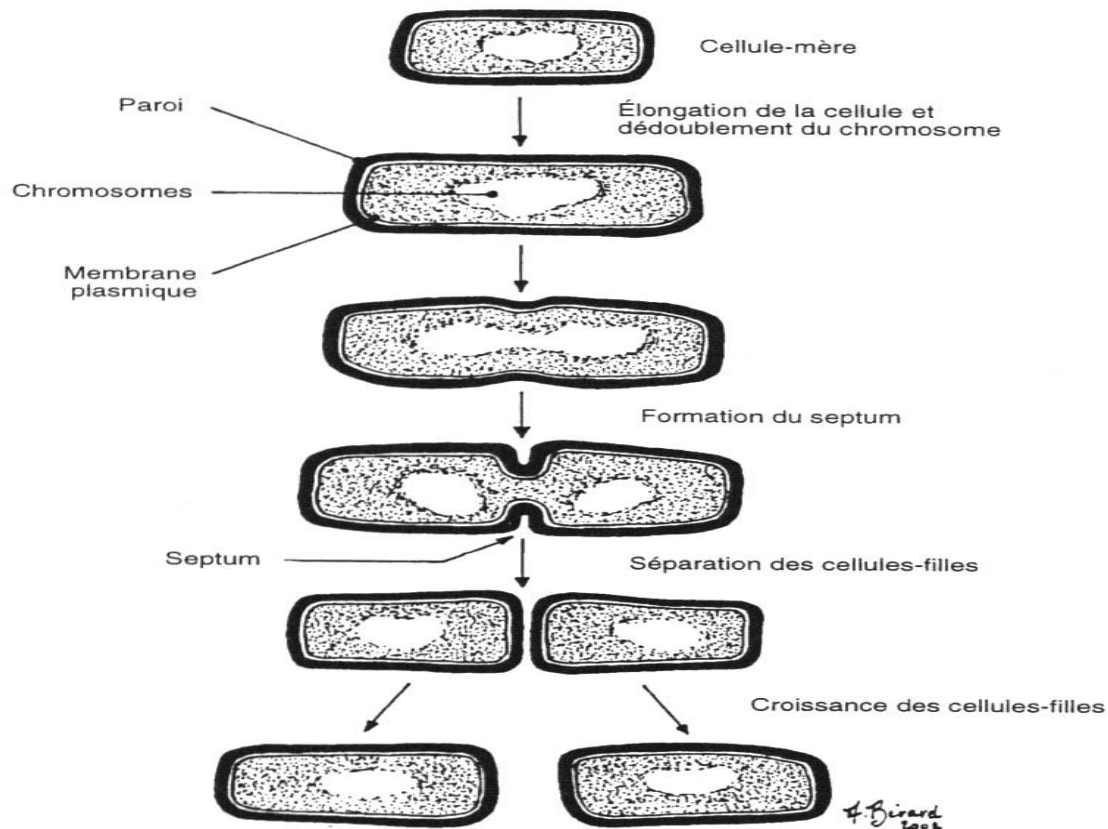


Figure6. Recombinaison bactérienne(<http://www.les.beaux.jardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bacteries.htm>).

I-2-4-Espèces bactériennes utilisées

I-2-4-1-*Escherichia Coli*

Escherichia coli est un bacille à coloration de *Gram*-, mobile, aérobic, résident normal du tube digestif de l'homme (Delarras 2007). Cette bactérie est utile parce qu'elle favorise la production de certaines vitamines et dégrade certains aliments qui seraient autrement impossible à digérer. Toutefois, il existe des Souches virulentes qui causent des troubles

quand elles croissent dans les intestins. On soupçonne que 50 à 85% des diarrhées sont dues à *Escherichia coli* entérotoxigènes.

Les souches entéropathogènes d'*Escherichia coli* possèdent des adhésines (Figure 7) qui se fixent seulement à des types spécifiques de cellules de certaines régions de l'intestin grêle et après avoir adhéré aux cellules hôtes, provoquent ainsi l'endocytose : ce qui permet sa pénétration dans ces cellules et de s'y multiplier. *Escherichia coli* est l'agent causal des inflammations touchant les reins par la destruction des néphrons, ce qui nuit grandement au fonctionnement de ces derniers (Perry *et al.* 2004).

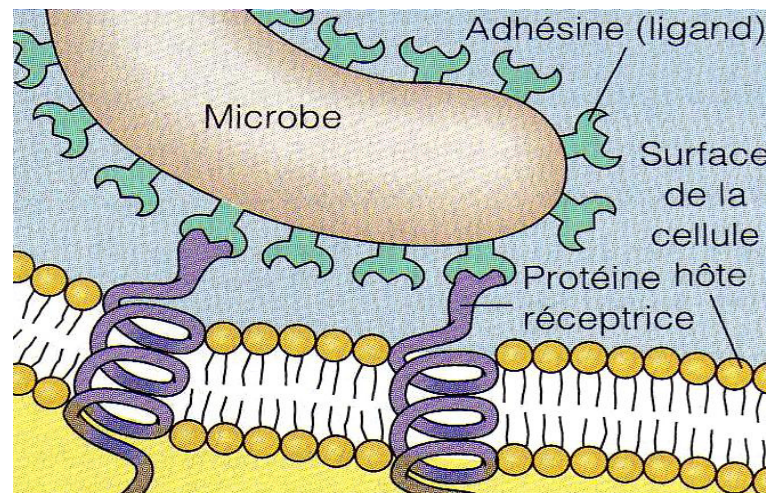


Figure 7.Exemple d'adhérence d'un microbe à une cellule cible (Tortora *et al.* 2003)

La Figure7 ci-dessous est un exemple d'adhérence d'un microbe à une cellule cible (Tortora *et al.* 2003).

Klebsiella pneumoniae

Les *Klebsiella* sont des bactéries immobiles en diplobacilles généralement capsulées, à coloration de *Gram* négative, très fréquentes dans la nature, commensales de l'homme et responsables d'infections opportunistes hospitalières chez les malades fragilisés.

Parmi les espèces couramment rencontrées ; *Klebsiella pneumoniae*: agent de pneumopathies aiguës, d'angines et d'otites, parfois retrouvée dans les infections urinaires nosocomiales (Madigan & Martinko 2007).

Ce genre causal de la pneumonie bactérienne présente une virulence liée à la capsule de polysaccharides qui permet à la bactérie d'adhérer aux voies respiratoires et de les coloniser.

La production de la capsule fait aussi obstacle aux défenses de l'hôte en perturbant la phagocytose (Perry *et al.* 2004).

I-2-4-3- Entérobactéries

Les bactéries qui composent la famille des *Enterobacteriaceae* sont parmi les plus importants pathogènes humains. Ce sont des bacilles Gram négatifs qui sont, soient mobiles avec une ciliature péritriche, soient immobiles et non sporulés. Elles sont aérobiques et anaérobiques facultatives et se développent sur des milieux ordinaires à base d'extrait de viande ou de peptone. Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et possèdent une nitrate réductase. Elles sont oxydase-négatives et catalase-positives (Brooks *et al.* 2004, Denis *et al.* 2007). Elles sont à la fois des bactéries saprophytes, commensales et pathogènes. On distingue plusieurs espèces parmi lesquels :

- *Entérobactercloacae*

Les bactéries *Enterobacter cloacae* sont mobiles et caractéristiques des tests tels que la fermentation du lactose et la capacité à pousser dans les milieux au citrate. Elles synthétisent de l'ornithine décarboxylase. Les caractères négatifs sont l'absence du tryptophane désaminase, de la lysine décarboxylase, d'uréase, de production du H₂S et d'indole (Denis *et al.* 2007). *Enterobacter cloacae* est impliquée dans un large éventail de syndromes cliniques majoritairement contractés en milieu hospitalier, mais aussi en milieu communautaire. C'est par exemple les septicémies, les infections des voies urinaires, les infections des voies respiratoires, les infections abdominales, les infections des plaies et les infections cutanées. Cette espèce est la plus fréquemment impliquée dans les cas de bactériémies nosocomiales à entérobactéries (Denis *et al.* 2007). *Enterobacter cloacae* est sensible à la colistine, à la gentamicine, aux tétracyclines et à la céfuroxime (Brooks *et al.* 2004).

- *Enterobacter aerogenes*

Enterobacter aerogenes possède un flagelle et est fréquemment responsable des infections nosocomiales des voies respiratoires (Davin *et al.* 1996). Dans plusieurs isolats cliniques; on note une diminution de la synthèse de porines non spécifiques et la présence d'une pompe à efflux active, qui contribuent à une résistance accrue vis-à-vis d'une grande variété de médicaments tels que les β-lactamines, les quinolones, les tétracyclines et le cloramphénicol (Malléa *et al.* 2003)

Enterobacter BM 67

I-2-5- Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

Plusieurs méthodes existent pour évaluer *in vitro* la sensibilité des bactéries aux antibactériens. On peut citer entre autres les méthodes de diffusion en milieu solide (technique

des disques et des puits) et les méthodes de dilution en milieu liquide (microméthode de dilution et macrométhode de dilution).

I-2-5-1- Méthodes de diffusion en milieu solide.

➤ **Méthode de diffusion par la technique des disques**

La méthode des disques consiste en la diffusion des substances à tester de concentration connue, imprégnées sur les disques de papiers filtre en contact avec le milieu de culture solide coulé dans les boîtes de pétri, préalablement ensemencées d'un inoculum bactérien. Les boîtes de Pétri sont incubées dans les conditions appropriées au germe en étude. Plus l'agent diffuse, plus sa concentration se réduit, créant ainsi un gradient de concentration autour des disques de papiers filtre. Après incubation, si la substance contenue sur les disques a une activité antibactérienne vis-à-vis du germe ensemencé, une zone d'inhibition de croissance sera observée autour de ces derniers (Cos *et al.* 2006, Brooks *et al.* 2004).

➤ **Méthode de diffusion par la technique des puits**

Pour cette méthode, les substances à tester diffusent plus tôt à travers des puits de 6 à 7 mm de diamètre. Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition observées autour des puits seront mesurés à l'aide d'un pied à coulisse (Kareem *et al.* 2008).

I-2-5-2-Méthodes de dilution en milieu liquide

Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'extraits selon une progression géométrique de raison 2. Selon que la série de dilution des extraits est réalisée dans une série de tubes ou de cupules sur microplaque contenant du bouillon nutritif, on parlera respectivement de macrométhode de dilution et de microméthode de dilution. L'inoculum bactérien est distribué dans chaque tube ou cupule contenant l'extrait. Un tube ou une cupule dépourvue d'extrait sert de témoin de croissance. Après incubation, la concentration minimale inhibitrice (CMI) est indiquée par le tube ou cupule qui contient la plus faible concentration en extrait et où aucune croissance n'est visible (Cos *et al.* 2006).

I-2-6-Infections bactériennes

L'infection bactérienne est la pénétration et le développement des bactéries dans l'organisme.

I-2-6-1- Pouvoir pathogène des bactéries

Les bactéries se comportent dans l'organisme de l'hôte infecté comme des éléments étrangers à ses constituants, dotés de propriétés de parasitisme, capables de se développer à ses dépens et produisant des effets pathologiques par leur prolifération ou par l'intermédiaire de substances qu'elles synthétisent (Alonso *et al.* 2016).

La pathogénicité des bactéries est un paramètre qualitatif concernant la formation de lésions et leur nature. La virulence des bactéries peut se définir comme la mesure quantitative de la pathogénicité, elle est donc liée soit à la prolifération des bactéries, soit à l'intensité de libération de substances pathogènes telles que des toxines. Selon leur localisation dans les constituants de l'hôte infecté durant l'évolution de l'infection, les bactéries sont classées en bactéries à multiplication intracellulaire et bactéries à multiplication extracellulaire. Les premières sont capables de persister ou même de se répliquer dans le cytoplasme des cellules phagocytaires. Quant aux secondes, elles échappent à la phagocytose, grâce à des structures d'enveloppe de la cellule bactérienne (capsules, enveloppes protéiques), ou bien, au contraire, elles ne peuvent subsister que dans les espaces extracellulaires parce qu'elles ne résistent pas à la bactéricidie intracytoplasmique dans les cellules phagocytaires. Cette localisation des bactéries dans l'organisme de l'hôte conditionne l'efficacité des réactions immunitaires de celui-ci (Alonso *et al.* 2016).

I-2-6-2-Processus de déroulement de l'infection bactérienne

Le processus infectieux se déroule de façon diverse selon les bactéries et selon les compétences immunitaires de l'hôte :

- Invasion mortelle de l'organisme par prolifération bactérienne et libération de substances toxiques (toxines bactériennes ou endotoxine de la paroi des bactéries Gram négatives),
- Infection immunisante efficace suivie de guérison avec stérilisation,
- Infection immunisante laissant néanmoins persister un état de portage latent,
- Infection « muette » immunisante ou non (primo-infection),
- Ou infection latente pouvant être réactivée par une perturbation immunitaire (Alonso *et al.* 2016).

I-2-6-3-Étapes de l'infection bactérienne

L'étape première de déclenchement du processus infectieux est l'adhésion des bactéries aux surfaces épithéliales. On s'est aperçu que certaines structures de la cellule bactérienne, telles que les pili, intervenaient dans cette phase d'adhésion. L'invasivité est un caractère

variable selon les espèces bactériennes ; certaines induisent des désordres étendus bien qu'elles ne franchissent pas les revêtements auxquels elles adhèrent (*Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* entérotoxigènes, *Corynebacterium diphtheriae*...), d'autres peuvent franchir les barrières épithéliales et léser les tissus sous-jacents (les *Shigella*, les *Salmonella* et les Staphylocoques), enfin certaines espèces hautement pathogènes diffusent dans les tissus du système réticulo-endothélial, induisant une septicémie (*Salmonella typhi*, *Yersinia pestis*...). L'invasivité intra tissulaire de certaines bactéries serait due à la production d'enzymes telles que les hyaluronidases, coagulases, fibrinolysines, collagénases, etc. Des études expérimentales récentes ont montré que la mise en évidence des facteurs de virulence que constituent l'adhésivité et l'invasivité de certaines souches d'*Escherichia coli*, de *Shigella* ou de *Yersinia* était associée à l'existence de certains plasmides dans ces bactéries (Alonso *et al.* 2016).

I-2-6-4-Diagnostique des infections bactériennes

Le diagnostic bactériologique est un ensemble de moyens permettant d'identifier la cause d'une infection d'origine bactérienne. C'est une étape primordiale pour la lutte contre les infections ; plus cette étape est mal gérée, plus le traitement présentera des risques d'inefficacité.

I-2-6-5-Substances antibactériennes

Les substances antibactériennes sont définies comme étant des substances capables de tuer les bactéries ou d'empêcher leur multiplication. L'action antibactérienne va dépendre du microorganisme lui-même, de l'agent antibactérien et de l'environnement où se situe l'action. On parlera ainsi d'un effet bactériostatique lorsque la substance antibactérienne empêche la multiplication des bactéries et d'un effet bactéricide lorsqu'elle détruit totalement la bactérie (Meyer & Deiana 1988). On peut citer :

Les antifongiques ou fongicides : Ce sont des substances capables de tuer ou de limiter la prolifération des champignons microscopiques.

Les antiseptiques : Ce sont des substances ayant pour but de détruire les germes pathogènes ou d'empêcher leurs multiplications sur la peau et les muqueuses. Ce terme définit également ce qui détruit les microbes et empêche leur développement de façon générale.

Les biocides : Un produit biocide est une substance qui vise à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière, par une action chimique ou biologique (exemple : les pesticides et

insecticides).

Les désinfectants : Ce sont des substances qui tuent les micro-organismes et qui aident ainsi à la prévention des infections et contaminations. Contrairement aux antiseptiques, ces substances sont généralement nocives pour les tissus humains et sont utilisées pour décontaminer des objets.

Les antibiotiques sont des substances qui inactivent les bactéries. La plupart des antibiotiques sont produits par des micro-organismes, par exemple les champignons.

Un antibiotique doit:

- Etre non toxique ou faiblement toxique ;
- Etre capable d'atteindre la partie du corps humain où l'infection a lieu ;
- Avoir une durée de demi-vie suffisante dans l'organisme ;
- Avoir un large spectre d'activité permettant de détruire les bactéries responsables d'infections.

Certains antibiotiques tuent les bactéries (bactéricides) et d'autres inhibent leur croissance (bactériostatique). Chez les patients avec des défenses immunitaires intactes, l'un ou l'autre type d'antibiotique peut être utilisé, il ne fait qu'aider le système immunitaire à éliminer les bactéries. Par contre, chez les personnes immuno-compromises, les antibiotiques bactériostatiques peuvent se révéler inefficaces.

Tableau 1. Les différentes familles d'antibiotiques: activité, mécanismes d'action et de résistance (Petignat 2005).

| Antibiotiques | Activité | Mécanisme d'action, cible | Mécanisme de résistance |
|------------------------------|------------------------------|---|--|
| β -lactames | gram+ gram- anaérobies | inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne | - modification de la cible - production de β -lactamase |
| Glycopeptides | gram + | inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne | - modification de la cible |
| Aminoglycosides | gram- | inhibition de la synthèse des protéines, ribosomes | - modification de la cible - production d'un inhibiteur |
| Tetracyclines | gram+ gram- | inhibition de la synthèse des protéines, ribosomes | - modification de la cible - mécanisme de reflux |
| Macrolides et Lincosamides | gram+ gram- | inhibition de la synthèse des protéines, ribosomes | - modification de la cible - imperméabilité de la paroi gram |
| Quinolones | gram+ gram- | inhibition de la répllication de l'ADN, ADN gyrase | modification de la cible |
| Rifampin | gram + | inhibition de la synthèse de l'ARN, ARN polymérase | modification de la cible |
| Trimethoprim et Sulfonamides | gram+ gram | inhibition de la synthèse des acides nucléiques, enzyme | modification de la cible |

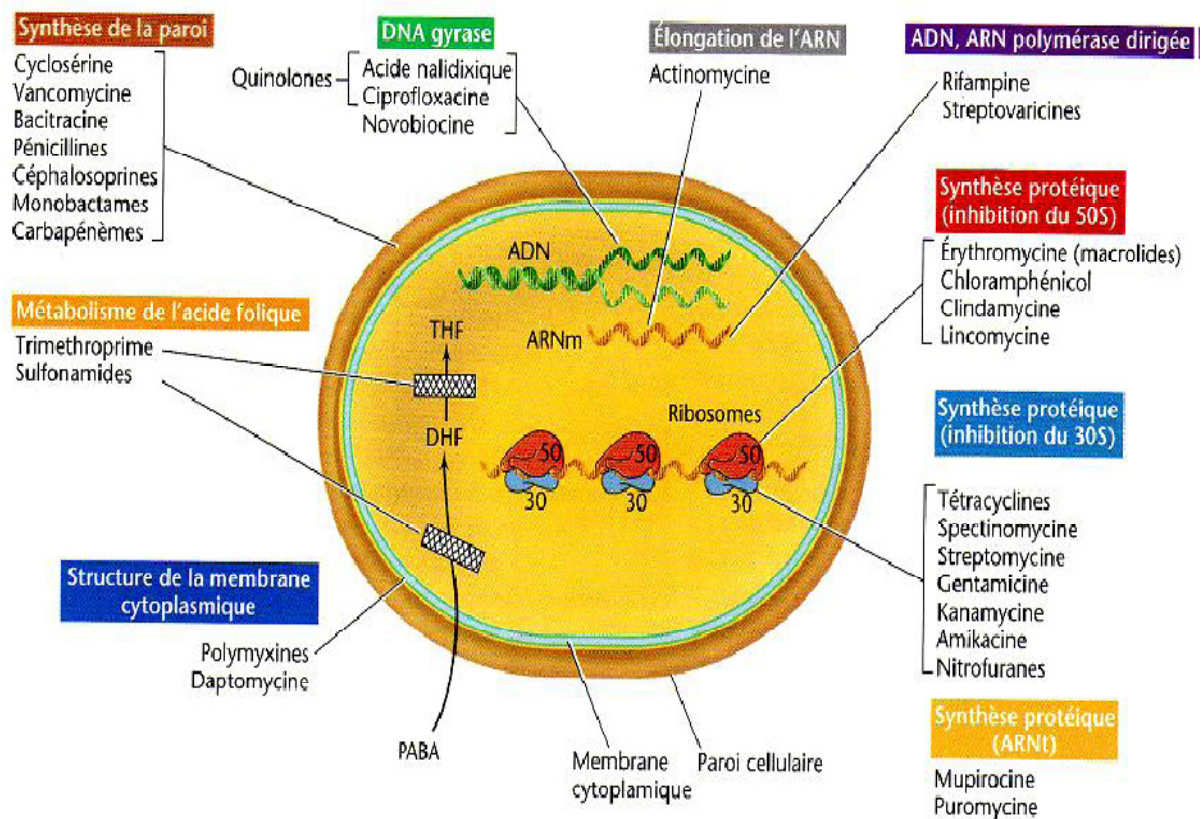


Figure 8. Mode d'action des agents majeurs chimiothérapeutiques antibactériens (Madigan&Martinko 2007) (THF : Tétrahydrofolate ; DHF : Dihydrofolate ; ARNm : ARN messenger ; ARNt : ARN de transfert)

I-2-6-6-Resistance bactérienne

➤ Origines de la résistance

La résistance aux antibiotiques peut être fréquemment codée par le microorganisme au niveau chromosomique ou plasmidique. La plupart des bactéries résistantes aux molécules antimicrobiennes, contiennent des gènes de résistance situés sur les plasmides R, plutôt que sur des chromosomes (Perry *et al.* 2004). Les souches bactériennes possédant ce plasmide, peuvent produire des enzymes qui modifient chimiquement ces antibiotiques par phosphorylation, acétylation ou adénylation. La molécule modifiée perd alors son activité antibiotique (Meyer *et al.* 2004).

➤ Diffusion de la résistance

La résistance héréditaire aux agents antibactériens est souvent portée par des plasmides ou par des petits fragments d'ADN appelés transposons, qui se déplacent d'une région de la

molécule d'ADN à une autre. Certains plasmides y compris les facteurs R peuvent être transférés entre les cellules bactériennes. Ces derniers possèdent souvent des gènes de résistance à plusieurs antibiotiques. L'utilisation répandue des antibiotiques médicaux, vétérinaires et agricoles continue à fournir des conditions sélectives pour la diffusion des plasmides R avec des gènes de résistance aux antibiotiques, en sélectionnant et en favorisant les bactéries contenant ces plasmides (Tortora *et al.* 2003).

➤ Mécanismes de la résistance

Aucun antibiotique n'inhibe l'ensemble des microorganismes. Quelques microorganismes sont naturellement résistants à certains antibiotiques (Meyer *et al.* 2004).

Il y a plusieurs raisons pour lesquelles un microorganisme peut avoir une résistance naturelle à un antibiotique (Tableau 2) (Madigan & Martinko 2007).

- Le microorganisme peut ne pas posséder la structure ciblée par l'antibiotique. Par exemple, certaines bactéries ne possèdent pas de paroi bactérienne typique et sont donc résistantes aux pénicillines.
- Il peut être imperméable à l'antibiotique. Ainsi, la plupart des bactéries à *Gram-* sont imperméables à la pénicilline G.
- Il peut modifier la structure chimique de l'antibiotique en une forme inactive. Beaucoup de staphylocoques contiennent des β -lactamases qui peuvent couper le Cycle β -lactame de la plupart des pénicillines.
- Il peut modifier la cible de l'antibiotique.
- Le microorganisme peut développer une voie biochimique résistante. Par exemple, de nombreux microbes pathogènes développent la résistance aux molécules de sulfamides, empêchant la production d'acide folique chez les bactéries. Les souches résistantes modifient leur métabolisme pour assimiler l'acide folique présent dans l'environnement, évitant l'utilisation de la voie métabolique bloquée par les sulfamides.
- Le microorganisme peut être capable de relarguer un antibiotique entré dans la cellule (mécanisme d'efflux).

Tableau 2. Mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques (Madigan et Martinko2007)

| Mécanisme de résistance | Exemple d'antibiotique | Origine génétique de la résistance | Mécanisme présent chez |
|---|--|---|--|
| Réduction de la perméabilité | Pénicilline | Chromosomes | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Bactéries entériques |
| Inactivation des antibiotiques (par exemple, pénicillinase) | Pénicillines Chloramphénicol | Plasmides et Chromosomes | <i>Staphylococcus aureus</i> Bactéries entériques <i>Neisseriagonorrhoeae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Bactéries entériques |
| Modification de la cible (par exemple, ARN polymérase) | Aminoglycosides Erythromycine Rifamycine Streptomycine Norfloxacin | Plasmides et Chromosomes | <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Bactéries entériques Bactéries entériques Bactéries entériques <i>Staphylococcus aureus</i> |
| Développement de résistance des voies métaboliques | Sulfonamides | Chromosomes | Bactéries entériques <i>Staphylococcus aureus</i> |
| Excrétion (pompage vers l'extérieur de la cellule) | Tétracycline Chloramphénicol Erythromycine | Plasmides Chromosomes Chromosomes | Bactéries entériques <i>Staphyloccoccus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphyloccoccus</i> |

I-3-BIOMOLECULES ISSUES DES PLANTES MEDICINALES

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et huiles essentielles et les composés azotés, dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités biologiques (Li *et al.* 2007).

I-3-1 -Composés terpéniques et huiles essentielles

Les terpènes sont des composés à structure isoprénique. Ils représentent les composés majeurs des huiles essentielles où ils sont présents sous forme de diterpènes (C₂₀), triterpènes (C₃₀), tétraterpènes (C₄₀), sesquiterpènes (C₁₅) et d'hémiterpènes (C₅). On parle de terpenoïdes lorsque les terpènes contiennent des éléments supplémentaires, généralement l'oxygène. Les terpènes et les terpenoïdes sont actifs contre les bactéries, les levures et les virus (Suresh *et al.* 1997). Leur mécanisme d'action n'est pas complètement élucidé, ils perturberaient la structure membranaire des microorganismes à travers leurs composants lipophiles (Cowan 1999).

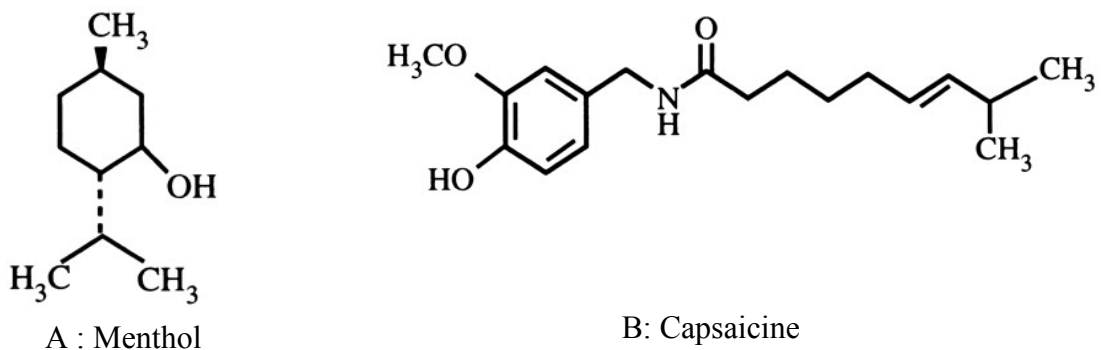


Figure 9. Les composés terpéniques (Cowan 1999).

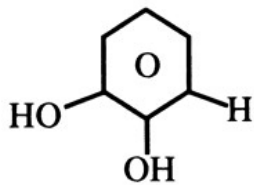
I-3-2- Composés phénoliques

Le terme « *poly phénols* » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux.

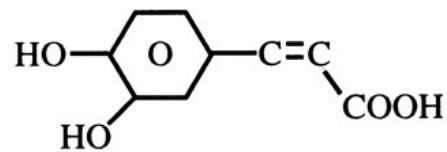
En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols. Ce qui exclurait alors les mono phénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Donc la désignation générale « composés phénoliques » concerne à la fois les mono, les di et les poly phénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques, qui dérivent de la biogenèse de l'acide chikimique et/ou l'acétate et qui ne contiennent pas de l'azote (Fleuiet *et al.* 2005). Ils sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et de ce fait sont des éléments faisant partie de l'alimentation animale.

I-3-3- Phénols simples et acides-phénols

Les phénols simples (catéchol) sont constitués d'un seul cycle phénolique substitué et les acides phénols sont des dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ils se sont révélés toxiques vis-à-vis des microorganismes et la toxicité relative de chaque dérivé est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles sur le cycle aromatique, ils sont aussi anti-inflammatoires, antiseptiques urinaires, anti-radicalaires, hépatoprotecteurs, (Bruneton 1999, Cowan 1999).



A: Catécol



B : Acide caféine

Figure10. Les phénols simples et acides-phénols (Bruneton 1999, Cowan 1999).

I-3-4- Coumarines

Les coumarines sont des composés dont le squelette de base est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Ford *et al.* 2001). Ce sont des molécules biologiquement actives, elles manifestent diverses activités : antimicrobienne, anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, antitumorale, diurétiques, antivirale et analgésique (Stefanova *et al.* 2007).

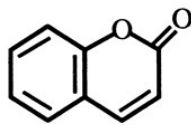


Figure11. Coumarine (Stefanova *et al.* 2007)

I-3-5- Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits (Fiorucci 2006). Tous possèdent le même élément structural de base : le noyau flavane constitué de deux noyaux aromatique A et B et d'un hétérocycle oxygéné central C (Bruneton1999, Reynaud & Lussignol 2005). Ils se sont révélés être des substances antimicrobiennes actives *in vitro* contre un large spectre de microorganismes. Cette activité serait due à leur capacité à se complexer avec les protéines

extracellulaires solubles et à la paroi bactérienne (Cowan 1999). Ils sont aussi connus pour leur activité antioxydante (Bruneton 1999).

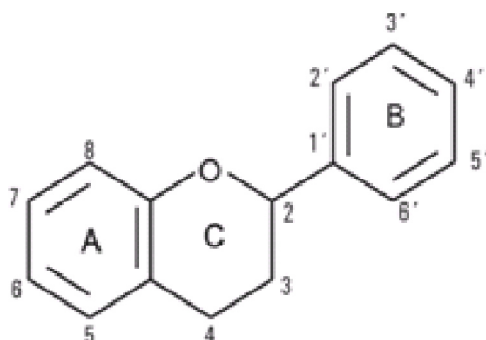
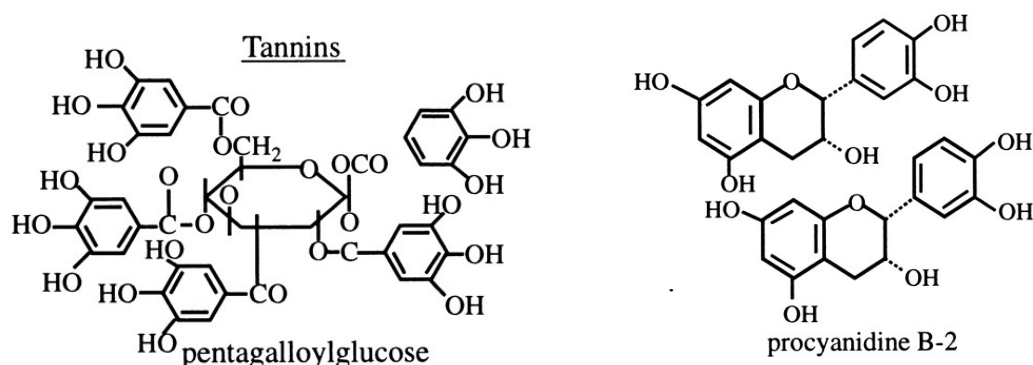


Figure 12. Structure de base des flavonoïdes (Bruneton 1999, Reynaud & Lussignol 2005).

I-3-6-Tannins

Les tannins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et caractérisés par leur astringence (Peronny 2005). On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales : les tannins hydrolysables et les tannins non hydrolysables ou tannins condensés (Ghestem 2001). Ils ont un effet anti diarrhéique; ils sont vasoconstricteurs et limitent la perte en fluides. Ces propriétés, ajoutées à leur effet antiseptique, en font des molécules intéressantes pour la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures, et les rendent utilisables dans le traitement des diarrhées infectieuses (Bruneton 1999). Certains sont aussi antioxydants.



A : Tannin condensé

B : Tannin hydrolysable

Figure 13. Structure des tannins (Ghestem 2001).

I-3-7-Quinones

Les quinones sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou oranges et possédant deux fonctions cétones. On les trouve chez les végétaux et les bactéries (Bruneton1999). En plus d'être une source de radicaux libres stables, les quinones sont capables de se complexer de façon irréversible aux aminoacides des protéines et pour cette raison, ils possèdent un potentiel antimicrobien élevé (Stern *et al.* 1996).



Quinone

Figure14. Structure de quinones (Cowan 1999).

I-3-8-Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés hétérocycliques. Certains alcaloïdes comme les alcaloïdes diterpénoïdes isolés des plantes de la famille des *Ranunculaceae* possèdent des propriétés microbicides (Omulokoli *et al.*1997).

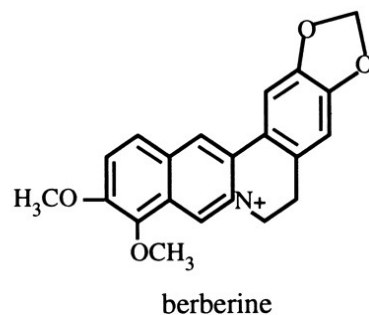


Figure 15. Structure des Alcaloïdes (Cowan 1999).

I-4-MÉTHODES D'EXTRACTION

Plusieurs techniques d'extraction existent ; nous pouvons citer :

- **La filtration.** Elle date de la préhistoire et permet, par exemple, au travers d'un lit de sable ou de mousse de rendre une eau boueuse limpide.

- **Le pressage.** Par exemple, il s'agit d'exercer une pression sur une orange pour obtenir le jus, ou d'écraser des fleurs pour extraire les arômes comme le faisaient les égyptiens.

- **La décoction.** On place la racine ou l'écorce d'une plante dans de l'eau froide ; le tout est porté à ébullition et les constituants se dissolvent dans l'eau. Cette méthode est très ancienne.

- **L'enfleurage.** Les fleurs fragiles (violette ou jasmin) sont posées sur des châssis enduits de graisse animale très pure et inodore qui absorbe le parfum des fleurs au contact ; en fin de séchage, les graisses sont imprégnées de substances odorantes que l'on extrait avec de l'alcool.

- **L'infusion.** On verse de l'eau bouillante sur les feuilles ou les fleurs finement hachées puis on les laisse tremper pour dissoudre les principes actifs. Le thé en est un exemple.

- **La macération.** Une substance séjourne à froid dans un solvant organique pour en extraire les constituants solubles dans ce solvant. Ex : la présence de fruits dans l'alcool.

- **Entraînement à la vapeur ou hydrodistillation.** Les parfums de la plante (huiles parfumées ou huiles essentielles) sont entraînés par de la vapeur d'eau. Cette technique date de l'Egypte ancienne.

- **Extraction par solvant.** C'est un procédé plus récent (19^{ème} siècle) qui permet d'extraire des composés qui ne peuvent pas l'être avec de l'eau.

Toutes ces techniques connues depuis longtemps ont été perfectionnées et sont toujours utilisées (<http://www.maxicours.com/soutien-scolaire/chimie/terminale-s/182131.html>).

CHAPITRE II :
MATÉRIEL
ET MÉTHODES

II-1-RÉCOLTE ET IDENTIFICATION DE LA PLANTE

La plante *Oxalis barrelieri* fraîche a été récoltée aux alentours de l'ENS de Yaoundé I au mois de juillet 2015, puis a été identifiée à l'Herbier National du Cameroun par comparaison avec le spécimen N°24509. Cette plante entière a été séchée à l'ombre à l'animalerie de l'ENS sur des planches propres en bois pendant un mois environ. Ensuite la plante a été écrasée au moulin et récupérée dans un sac propre.

II-2- ESSAI D'EXTRACTION

Une chromatographie sur couche mince a été faite sur cinq échantillons contenant des extraits de *Oxalis barrelieri* à l'acétate d'éthyle pur, au chlorure de méthylène pur, à l'hexane pur, au méthanol pur et au mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) ; ceci dans le but de choisir les meilleurs solvants d'extraction. La révélation du chromatogramme obtenu a été faite à l'aide d'une lampe UV et à la vapeur d'iode afin de marquer les composés non visibles à l'œil nu. Des comparaisons ont été faites pour choisir deux solvants qui extraient le plus de composés. Les extractions doivent donc se faire par macération de la poudre avec les deux solvants choisis (mélange chlorure de méthylène/méthanol (1/1) et méthanol pur).

II-3- MACÉRATION AVEC LE MÉLANGE CHLORURE DE MÉTHYLÈNE/MÉTHANOL (1/1)

Un kg de poudre de *Oxalis barrelieri* a été pesé à l'aide d'une balance et introduit dans un bocal en verre. 2 l d'un mélange de chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) a été préparé par introduction d'un l de méthanol dans une éprouvette graduée, suivie de l'ajout dans cette éprouvette d'un l de chlorure de méthylène. Ce mélange a été introduit dans notre bocal en verre contenant 1kg de poudre de *Oxalis barrelieri*. La solution a été homogénéisée à l'aide d'une baguette en fer. Le bocal a été fermé correctement et nous avons attendu 24h.

Après 24h, le mélange obtenu a été filtré sur du papier filtre Whatman n°1 accolé à un entonnoir. Le filtrat a été obtenu dans un autre bocal en verre. Ce filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif (Figure16) à 40°C (pour l'évaporation du chlorure de méthylène) et ensuite à 65°C (pour l'évaporation du méthanol). L'extrait a été introduit dans un erlen Meyer et déposé dans une hotte aspirante pendant 4 jours pour évaporation complète du solvant.



Figure 16.Évaporateur rotatif (prise par KANA en 2016)

Ce travail a été donc répété pendant 3 jours avec pour but d'extraire le maximum de composés et en grande quantité.

A la fin la masse sèche obtenue à partir de 1 kg de poudre va nous permettre de calculer le rendement d'extraction d'après la formule suivante :

$$\text{rendement}(d' \text{ extraction}) = \frac{\text{masse}(\text{extrait obtenu})}{\text{masse}(\text{poudre initiale})} * 100$$

(Les masses en g, le rendement en %)

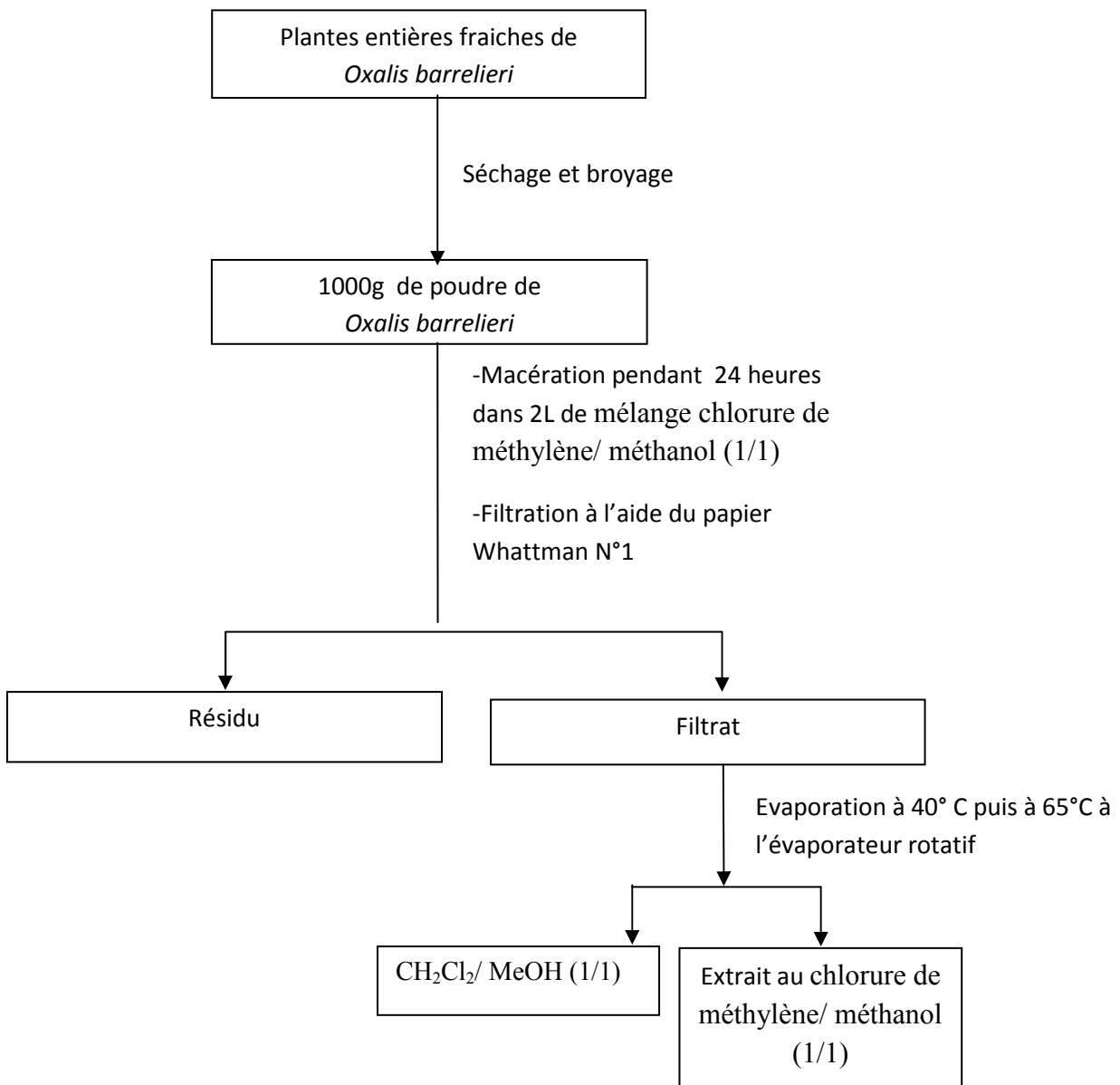


Figure17.Protocole de préparation de l'extrait organique de *Oxalis barrelieri* par le mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1)

II-4- MACÉRATION AVEC LE MÉTHANOL PUR

Un kg de poudre de *Oxalis barrelieri* a été pesé par une balance et introduit dans un bocal en verre. Grâce à une éprouvette graduée, 2l de méthanol pur ont été mesurés, introduits dans le bocal en verre contenant la poudre. Le mélange a été homogénéisé à l'aide d'une baguette en fer. Le bocal a été fermé correctement et nous avons attendu 3jrs.

Après trois jours, le mélange obtenu a été filtré et concentré à 65°C comme précédemment fait pour la macération avec le mélange chlorure de méthylène/méthanol (1/1)

et l'extrait a été également déposé dans une hotte aspirante pour évaporation complète du solvant. Le même travail a été également répété pendant 3 jours avec pour but d'extraire le maximum de composé et en grande quantité.

A la fin, la masse sèche obtenue à partir d'1kg de poudre sera pesée grâce à une balance et le Rendement d'extraction (%) sera calculé par la formule précédemment écrite.

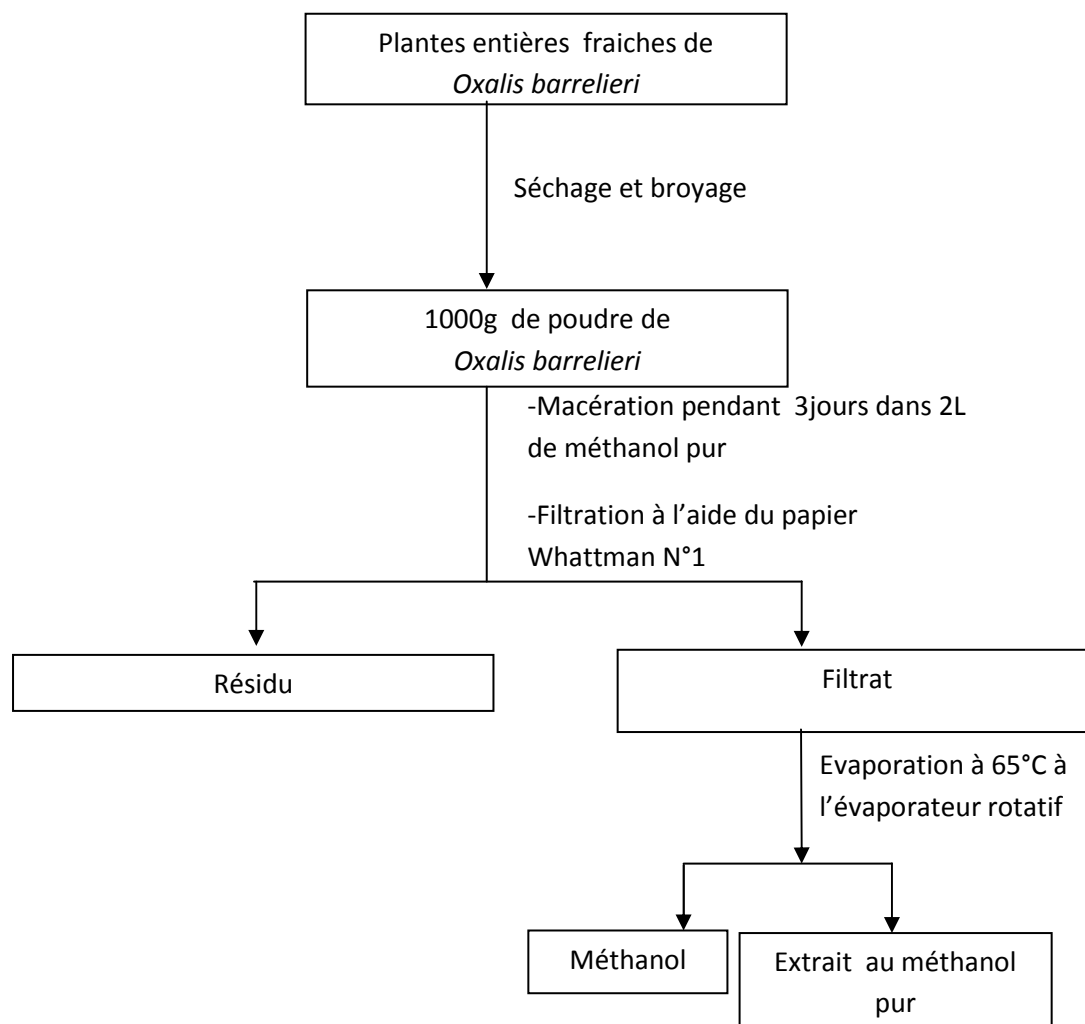


Figure18. Protocole de préparation de l'extrait organique de *Oxalis barrelieri* par le méthanol

II-5-TESTS PHYCHOCHIMIQUES

II-5-1-Test des triterpènes

Une quantité (de l'ordre de 0.02g) d'extrait de *Oxalis barrelieri* au mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) a été introduit dans un petit flacon et une quantité d'extrait au méthanol pur de *Oxalis barrelieri* a été introduit dans un autre flacon. Ces quantités sont prélevées à l'aide de spatule. Quelques gouttes de chloroforme ont été ajoutées dans chacun de ces deux flacons. Après dissolution quelques gouttes d'acide sulfurique et d'anhydride

acétique ont été ajoutées successivement. On a observé une apparition de la couleur bleue en abondance, qui traduit la présence des triterpènes (Harbone 1976).

II-5-2-Test aux flavonoïdes

À l'aide de spatules, de petites quantités de *Oxalis barrelieri* extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1/1) et *Oxalis barrelieri* extrait au méthanol ont été prélevées distinctement et introduit distinctement dans deux flacons. Quelques gouttes d'alcool, particulièrement l'éthanol ont été ajoutées dans chaque flacon. À chacun de ces 2 flacons quelques gouttes de H₂SO₄ et les copeaux de magnésium ont été successivement ajoutées. Directement, on a noté l'effervescence doublée d'un changement de coloration qui est rouge brique pour *Oxalis barrelieri* extrait au méthanol uniquement mais pour *Oxalis barrelieri* extrait par le mélange, il n'y a aucun changement (Harbone 1976).

II-5-3-Test aux phénols

Une petite quantité de *Oxalis barrelieri* extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1/1) a été introduit dans un petit flacon. Une petite quantité de *Oxalis barrelieri* extrait au méthanol a été introduit dans un autre flacon. Quelques gouttes de chlorure de fer(FeCl₃) ont été ajoutées dans chacun de ces 2 flacons. L'observation d'une coloration violette montre que le test a été positif (Odebeyi & Sofowora 1978).

II-5-4-Test des tannins

Une petite quantité de *Oxalis barrelieri* extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1/1) a été introduit dans un petit flacon. Une petite quantité de *Oxalis barrelieri* extrait au méthanol a été introduit dans un autre flacon. Nos flacons ont été Chauffés et agités pendant 3 minutes dans l'eau à 100°C. Quelques gouttes de chlorure ferrique ont été ajoutées dans chaque flacon. Une coloration verte foncée apparait dans les 2 flacons (Sathish *et al.* 2013).

II-5-5-Test des saponines

Une petite quantité de *Oxalis barrelieri* extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1/1) a été introduit dans un petit flacon. Une petite quantité de *Oxalis barrelieri* extrait au méthanol a été introduit dans un autre flacon. Nos flacons ont été chauffés et agités pendant 3 minutes dans de l'eau bouillante à 100°C. ensuite, les flacons ont été retirés de l'eau et secoués fortement. On observe une mousse (Sathish *et al.* 2013).

II-5-6-Test des alcaloïdes

Une petite quantité de *Oxalis barrelieri* extrait au mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) a été introduit dans un petit flacon. Une petite quantité de *Oxalis barrelieri* extrait au méthanol a été introduit dans un autre flacon. Le réactif de Meyer a été ajouté dans chacun de ces flacons, on note aucun changement (Sathish *et al.* 2013).

II-5-7-Test des lipides

À l'aide d'une spatule une petite quantité de chacun de nos deux extraits a été déposé sur du papier filtre. On note l'apparition de la tache translucide sur le papier filtre (Rajar *et al.* 2013).

II-6-RÉALISATION DES TESTS BIOLOGIQUES

II-6-1- Réalisation de l'antibiogramme : relation concentration-activité

La relation concentration-activité est étudiée pour chaque extrait végétal actif vis-à-vis d'un germe.

II-6-1-1- Culture des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur milieu gélose MHA coulé dans les boîtes de pétri. Les boîtes de pétri ont été introduites dans l'incubateur (précision) à 37°C pendant 18 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées ont servi à la préparation de l'inoculum.

II-6-1-2- Préparation de l'inoculum

A l'aide d'une anse de platine stérile, quelques colonies de bactéries de chaque souche ont été prélevées du milieu d'activation et introduites chacune dans un tube contenant une solution physiologique stérile (Na Cl 0,9%). Le contenu de chaque tube a été homogénéisé à l'aide d'un vortex afin d'obtenir une turbidité comparable à l'échelle standard de 0,5 de Mc farland correspondant ainsi à la concentration de $1,5 \cdot 10^8$ UFC/ml. Ensuite, 147µL de la suspension résultante ont été prélevés et introduits dans 10853 µL de MHB pour un volume 11000 ml d'un milieu inoculé à $2 \cdot 10^6$ UFC/ml.

II-6-1-3- Préparation de la solution mère de l'extrait et de l'antibiotique de référence

On réalise une gamme de concentration croissante C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8 de l'extrait végétal. L'antibiogramme est réalisé avec cette série de concentration, chaque puits recevant 100 μ L d'une concentration donnée. Pour ce qui est de l'antibiotique de référence, 8 mg ont été dissoute dans le DMSO de manière à obtenir 2500 μ g/ ml de solution stock qui sera diluée dans le milieu pour avoir une solution de 40 μ g/ml.

II-6-2-Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La méthode de microdilution a été utilisée à cet effet selon le protocole décrit par (Newton *et al.*2002). A l'aide d'une micropipette, 100 μ L de bouillon de culture (MHB) ont été répartis dans chaque puits des plaques de microtitration de 96 puits. Ensuite, 100 μ L de solution d'extrait préparée ont été ajoutées dans le premier puits de chaque colonne et des dilutions séquentielles et successives variant selon une progression géométrique de raison 2 ont été effectuées. Le même procédé a été utilisé pour l'antibiotique de référence qui a servi de contrôle positif. Certains puits contenant la souche et le milieu de culture ont servi de contrôle négatif. Un volume de 100 μ L d'inoculum bactérien a été introduit dans tous les puits, ce qui a permis d'obtenir un volume final de 200 μ L par puits, avec une concentration finale d'inoculum de 10⁶UFC/ml.

Les plaques ont ensuite été recouvertes à l'aide d'un couvercle à microplaque puis déposés dans l'incubateur à 37°C pendant 18 heures.

Après 18 heures d'incubation, les plaques ont été observés à l'œil nu dans le but de noter les différentes CMI. La procédure est illustrée dans la figure19 ci-dessous.

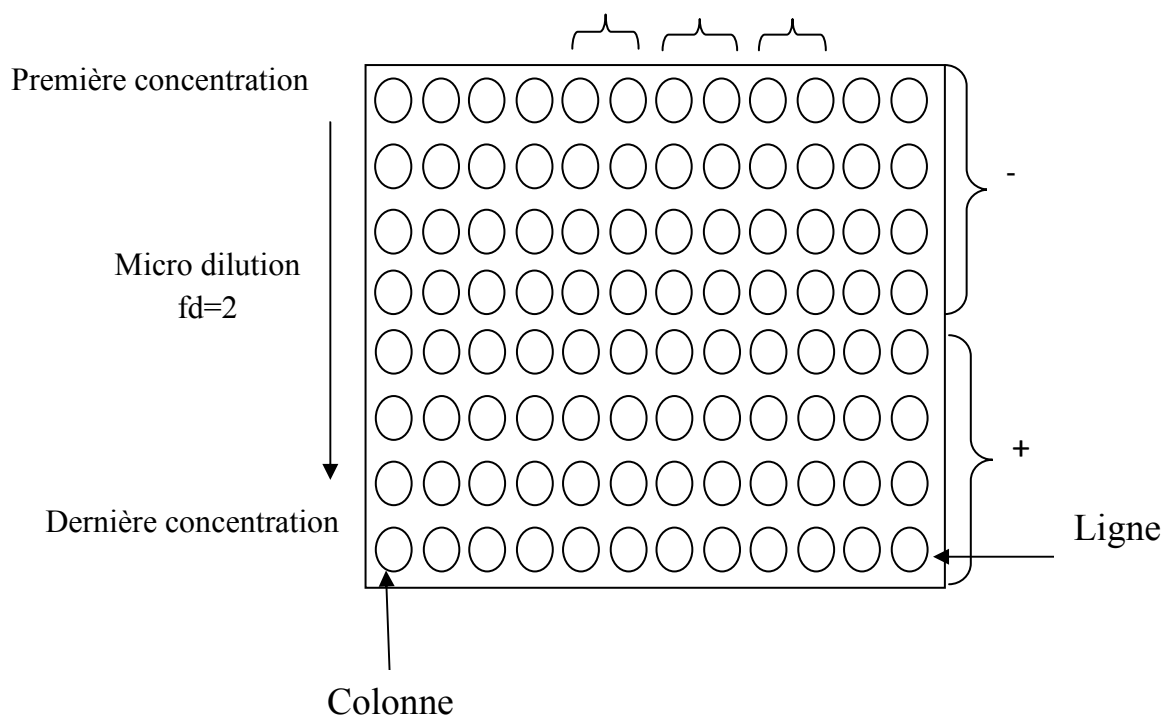


Figure 19. Illustration de l'utilisation d'une plaque de microtitration pour la détermination des CMI des différents extraits.

II-6-3-Révélation à la résazurine

La révélation a été faite par la méthode colorimétrique utilisant la résazurine. On observe que les puits contenant une solution de coloration orangée indiquent que les bactéries sont viables et dans les puits ayant une solution de coloration bleue les bactéries sont mortes et dont la plus petite concentration pour laquelle on n'observe pas de pousses bactériennes est appelée CMI. Selon (AliGiannis *et al.* 2001), la classification de l'extrait du matériel végétal sur la CMI se présente comme suit : forte inhibition (CMI inférieure à 500 µg/ml), inhibition modérée (CMI entre 600µg/ml et 1500µg/ml), faible inhibition (CMI supérieure à 1600µg/ml).

*CHAPITRE III :
RÉSULTATS ET
DISCUSSION*

III-1-RÉSULTATS

III-1-1-Résultats des essais d'extraction

Le test de solubilité a permis d'obtenir un chromatogramme (figure20) présentant les composés extraient par chaque solvant. Au vu du chromatogramme, nous avons constaté que le mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) (possède cinq composés) et le méthanol pur (possède quatre composés) sont des solvants qui extraient le plus grand nombre de composés dans la plante. D'où les extractions successives au mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) et méthanol ont été faites et les rendements d'extractions ont été calculés.

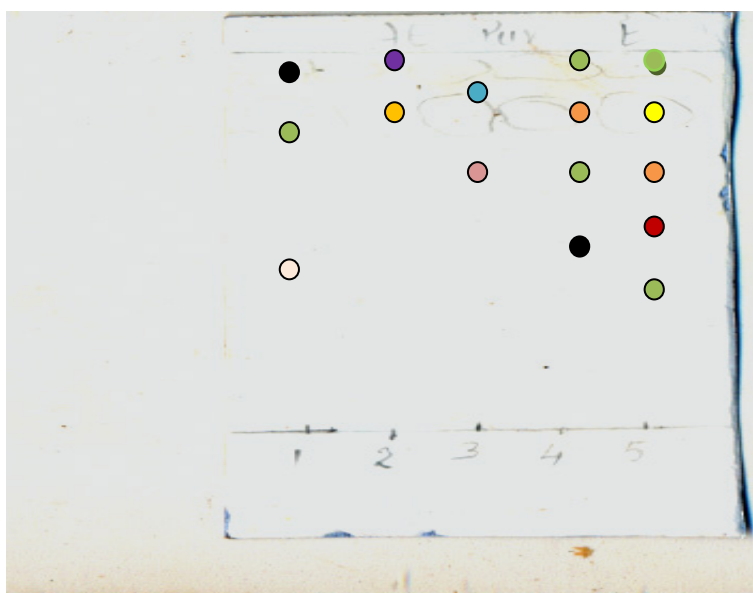


Figure20 . Chromatogramme

Légende : 1= extrait à l'acétate d'éthyle pur, 2= extrait au chlorure de méthylène pur, 3=extrait à l' hexane pur,4=extrait au méthanol pur et5= extrait au mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) ;

III-1-2-Rendement d'extraction de nos deux extraits organiques.

Les extraits organiques de *Oxalis barrelieri* ont été obtenus par des extractions dans le mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) d'une part et dans le méthanol pur d'autre part et les rendements d'extractions ont été calculés et sont représentés dans le tableau 3 ci-dessous.

Tableau 3. Rendement d'extraction

| | Masse sèche(g) | Masse d'extraits en (g) | Rendement d'extraction en (%) |
|---|-----------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Extrait au mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) | 1000g | 12,7 g | 1,27% |
| Extrait au méthanol pur | 1000g | 2,18g | 0,218% |

Les rendements d'extraction sont très faibles, surtout pour l'extrait au méthanol pur .Il sont de 1, 27% et 0,218% respectivement pour l'extrait au mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1,1) et méthanol pur.

Les deux extraits obtenus ont subi un criblage phytochimique dans le but de connaître les métabolites secondaires qu'ils renferment

III-1-3-Criblage phytochimique

Des réactions de caractérisation phytochimique ont été réalisées sur chaque extrait organique.

Le tableau4 présente les résultats des tests phytochimiques réalisés sur nos deux extraits organiques.

Tableau4. Analyse phytochimique (qualitative) de quelques métabolites secondaires des extraits organiques.

Légende : ++ présent; - - absent.

| Composes chimiques | Extrait organique de la plante au mélange chlorure de méthylène / méthanol (1/1) | Extrait organique de la plante au MeOH |
|--------------------|--|--|
| Triterpènes | ++ | ++ |
| Flavonoïdes | - - | ++ |
| Phénols | ++ | ++ |
| Tanins | ++ | ++ |
| Saponines | ++ | ++ |
| Alcaloïdes | - - | -- |
| Lipides | ++ | ++ |

Dans l'extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1/1) de *Oxalis barrelieri*, nous notons la présence des triterpènes, des Phénols, des lipides, des Tanins en grande quantité, celle des Saponines en quantité modérée et l'absence des Flavonoïdes, des Alcaloïdes.

Dans l'extrait au méthanol de *oxalis barrelieri*, nous notons la présence des triterpènes, des Phénols, des Flavonoïdes, des lipides, des Tanins en grande quantité, celle des Saponines en quantité modérée et l'absence des Alcaloïdes.

III-1-4- Essais antibactériens

Les extraits ont également été testés sur les souches bactériennes (*Entérobacter BM67*, *Escherichia coli ATCC8739*, *entérobacter aérogènes ATCC13048*, *klebsiella pneumonia ATCC11296*, *entérobacter cloacae K2*) dans le but de déterminer leur CMI vis-à-vis de ces souches sur les plaques de 96 puits. La ciprofloxacine est utilisée comme antibiotique de référence.

III-1-4-1 Évaluation des CMI

La figure 21 présente les résultats des tests de sensibilité dans une plaque de microtitration après révélation à la résazurine

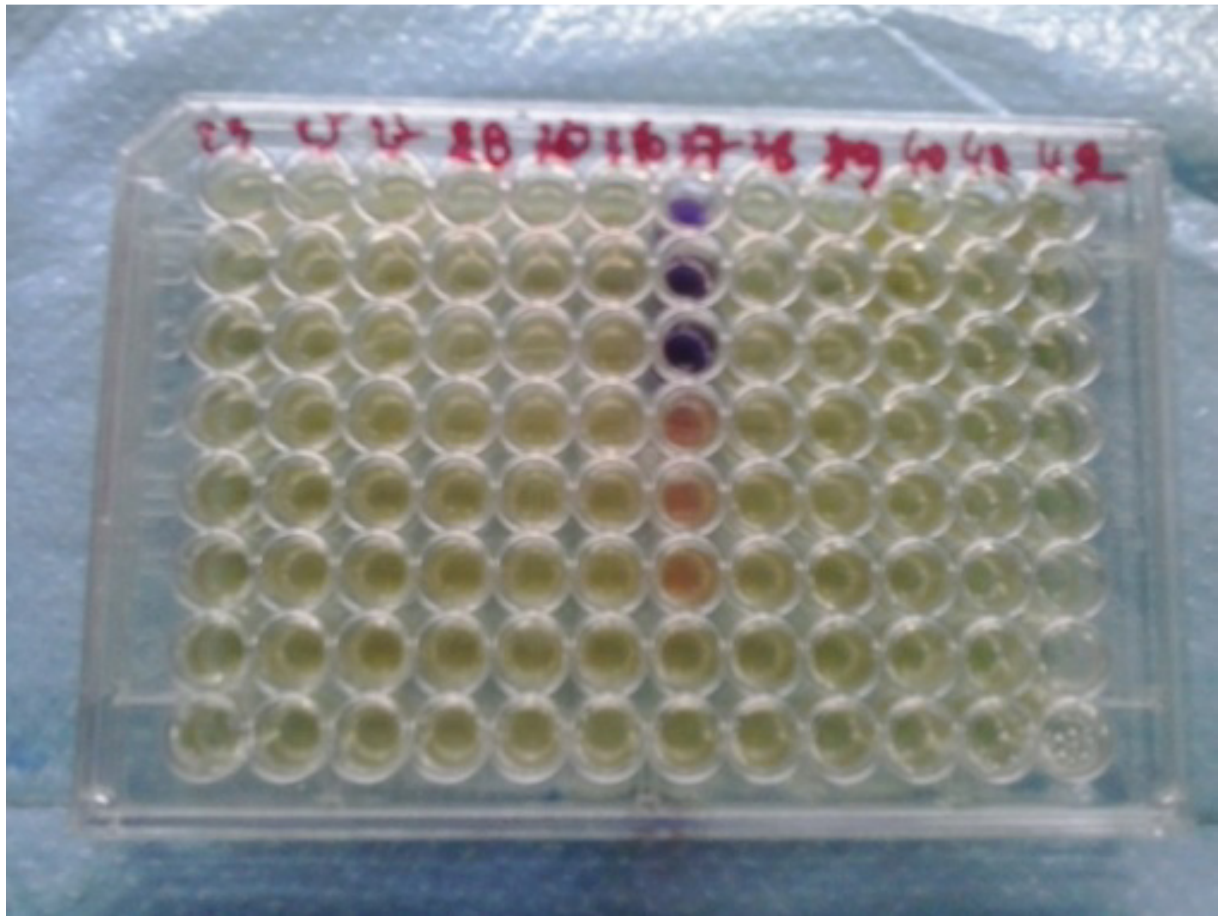


Figure 21. Plaque de microtitration

Sur cette plaque de microtitration, on observe que les puits contenant une solution de coloration orangée indiquent que les bactéries sont viables et dans les puits ayant une solution de coloration bleue, les bactéries sont mortes et dont la plus petite concentration pour laquelle on n'observe pas de pousses bactériennes est appelée CMI. Les résultats sont résumés dans les tableaux ci-après.

Tableau5 . Effet de l'extrait de *Oxalis barrelieri* au chlorure de méthylène/méthanol (1 :1) sur la croissance bactérienne à différentes concentrations.

Le signe - correspond à une présence de croissance visible à l'œil

| Germes | Dilution minimales inhibitrices du macéré et concentrations correspondantes en µg/ml | | | | | | | |
|-------------------------------|--|--------------|--------------|---------------|-----------------|---------------|--------------|---------------|
| | 1/1 (500) | 1/2 (250) | 1/4 (125) | 1/8 (62,5) | 1/16 (31,25) | 1/32 15,62 | 1/64 7,81 | 1/128 3,90 |
| <i>Enterobacter BM67</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Escherichia Coli</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Enterobacter aérogènes</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Klebsiellapneumoniae</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Enterobactercloacae</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |

Tableau 6 : Effet de l'extrait de *Oxalis barrelieri* au méthanol sur la croissance bactérienne à différentes concentrations.

Le signe - correspond à une présence de croissance visible à l'œil

| Germes | Dilution minimales inhibitrices du macéré et concentrations correspondantes en µg/ml | | | | | | | |
|-------------------------------|--|--------------|--------------|---------------|-----------------|---------------|--------------|---------------|
| | 1/1 (500) | 1/2 (250) | 1/4 (125) | 1/8 (62,5) | 1/16 (31,25) | 1/32 15,62 | 1/64 7,81 | 1/128 3,90 |
| <i>Enterobacter BM67</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Escherichia Coli</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Enterobacter aérogènes</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Klebsiellapneumoniae</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Enterobactercloacae</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |

Les valeurs de CMI pour chacun des germes n'ont pas été calculées par ce que les souches n'ont pas été inhibées.

III-1-4-2 Étude de la sensibilité des bactéries à l'antibiotique de référence : antibiogramme

La Ciprofloxacine utilisée comme produit de référence se caractérise par sa forte activité inhibitrice de croissance sur les germes testés, laquelle est matérialisée par des CMI très importantes comparativement aux valeurs nulles obtenues avec les extraits au chlorure de méthylène/méthanol (1 :1) et au méthanol. Le tableau suivant montre les activités (CMI) de la Ciprofloxacine sur les 5 souches bactériennes

Tableau 7 : Activité (CMI) de la Ciprofloxacine sur les 5 souches bactériennes

| | <i>Enterobacter BM67</i> | <i>Escherichia Coli</i> | <i>Enterobacter aérogènes</i> | <i>Klebsiellapneu moniae</i> | <i>Enterobacte rcloacae</i> |
|--|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| CMI ($\mu\text{g/ml}$) | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,62 | 0,31 |
| Dilution | 1/64 | 1/64 | 1/64 | 1/16 | 1/32 |

III-2-DISCUSSION

Les résultats des essais d'extractions ont montré que le mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) et le méthanol sont des solvants qui extraient le plus grand nombre de composés dans la plante. Ceci s'expliquerait par le fait que, ces deux solvants étant polaires (moment dipolaire 1,70 pour le méthanol et 1,60 pour le méthylène) possèdent un ou plusieurs atomes d'hydrogène susceptible(s) de former des liaisons hydrogènes avec les molécules ; d'où leur forte affinité avec les molécules de *Oxalis barrelieri*, contrairement aux autres solvants.

Le résultat de l'extraction montre des rendements d'extraction très faible : ils sont de 1,27% et 0,218% pour les extraits au mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1) et au méthanol respectivement. Ces faibles rendements seraient dus à la faible capacité des solvants utilisés à solubiliser les substances contenues dans la plante. On pourrait aussi expliquer ces résultats par l'influence du sol. En effet, un sol riche en substances nutritives favorise la formation par la plante des composés bioactifs; ce qui n'est pas le cas d'un sol pauvre.

Le rendement de l'extrait au méthanol seul est inférieur au rendement de l'extrait au mélange chlorure de méthylène/ méthanol (1/1). Ceci s'expliquerait par le fait que, le chlorure aurait détruit les membranes pour libérer les molécules de la plante, facilitant ainsi l'extraction en grande quantité des métabolites par le méthanol. Or lorsque le méthanol est seul, l'extraction est lente et induit un faible rendement.

Les résultats des tests phytochimiques ont révélé la présence des triterpènes, des phénols, des flavonoïdes, des lipides, des tannins et des saponines qui sont des métabolites. Les travaux antérieurs réalisés par Tagne *et al.* (2015) sur l'extrait aqueux de *Oxalis barrelieri* ont montré la présence des terpènes, des phénols des saponines et huiles volatiles.

Les résultats des cinq souches testées ont montré que *Oxalis barrelieri* n'avait pas d'effet antibactérien sur ces souches; ceci s'expliquerait soit par l'absence de composés susceptibles d'inhiber leur croissance soit par leur faible concentration dans les extraits, soit parce que *Oxalis barrelieri* n'a pas d'action antibactérienne. D'ailleurs, d'après (Takeo *et al.* 2004), l'absence d'efficacité d'un extrait brut de plante sur des souches bactériennes s'expliquerait de deux façons: soit l'extrait n'a pas de principes actifs capables d'inhiber la croissance des souches bactériennes, soit la concentration du principe actif dans l'extrait est trop faible pour susciter une réaction. Dans le même ordre d'idée, l'activité d'une substance végétale dépend de plusieurs facteurs dont le mode d'extraction et la concentration en principes actifs (Thangara *et al.* 2000). En outre, la paroi de toutes les bactéries contient des

polymères de glycanes qui sont réticulés par un pentapeptide dont la séquence est généralement attachée au sucre ; cette réticulation confère à la cellule sa rigidité et sa résistance mécanique (Breukink & Kruijff 2006). Tout ceci réduit l'entrée de l'extrait dans la cellule.

Or *Oxalis barrelieri* contient les triterpènes, les Phénols, flavonoïdes, tannins et les Saponines qui sont supposés avoir une activité antibactérienne (Kil *et al* 2009). Cette inefficacité pourrait s'expliquer en partie par le fait que les structures chimiques de ces différents composés possèderaient des groupes fonctionnels qui rendraient cette plante inactive sur les souches microbiennes utilisées et active sur d'autres souches pathogènes. D'ailleurs, Les études ont montrées que cette plante possède plusieurs vertus telles que des capacités hypotenseurs (Tanah 2010), hypoglycémiantes (Enock 2006), antidiarrhéique (Tagne *et al.* 2015), de l'hypertension artérielle (Tanah 2010) et de la toux. *Oxalis barrelieri* a également des effets contre les ulcères (Londapeu 2015). Ce qui confirme son utilisation en médecine traditionnelle sur d'autres pathogènes autres que les maladies dues aux bactéries.

CHAPITRE IV :
INTÉRÊT
DIDACTIQUE

IV-1-DÉFINITION DES CONCEPTS

Pédagogie : désigne l'art d'enseigner, ou les méthodes d'enseignements propres à une discipline donnée, à une matière, à un ordre d'enseignement, à un établissement d'enseignement, ou à une philosophie de l'éducation.

Didactique : désigne l'activité scientifique donc l'objet est l'étude de la construction du savoir.

Transposition didactique : désigne une théorie didactique qui met en exergue la différence entre le cours préparé et le cours enseigné.

Compétence : ensemble d'objectifs intégrés qui ne peuvent être atteints qu'à la fin d'une leçon.

Prérequis : ensemble de connaissances emmagasinées nécessaires pour l'acquisition d'une nouvelle leçon.

IV-2-INTÉRÊT DIDACTIQUE DE LA LEÇON

Les SVT sont une discipline scientifique qui éduque, instruit, éveille, forme et développe l'apprenant. Elle pousse l'apprenant à construction ses propres connaissances en étant acteurs et actifs. Ainsi, elle préconise l'utilisation de la méthode DIPHTERIC (données initiales, problèmes scientifiques, hypothèse, test d'hypothèse, résultats, interprétation et conclusion). A ce titre, l'enseignant de SVT doit avoir des connaissances, des compétences disciplinaires et méthodologiques. Il ne suffit pas pour enseigner de savoir ; il faut savoir enseigner.

L'apprenant à travers cet effort scientifique saura que, dans l'environnement, il existe d'autres êtres vivants (bactéries) invisibles à l'œil nu, capables de causer des maladies à l'homme. Par conséquent il est bon de les détruire par plusieurs voies ; parmi lesquelles l'utilisation des plantes. Nous avons donc le devoir de garder notre environnement riche en plantes médicinales.

IV-3-IMPORTANCE DE LA PRÉPARATION DE LA LEÇON DE SVT

L'enseignement des SVT est centré sur l'apprenant ; il doit construire lui-même ses connaissances avec l'aide des paires. Ceux-ci lui facilitent l'apprentissage, la compréhension des leçons. De ce fait, l'enseignant de SVT apparaît comme un guide, il doit construire un environnement didactique favorable à l'apprentissage. Ainsi, l'enseignant doit se baser sur les conceptions initiales des élèves, leur environnement pour bien faire son travail. Bien préparer

ses leçons, avoir le matériel didactique, prévoir en cas de nécessité les techniques et méthodes de laboratoire, afin d'amener les apprenants à identifier et formuler le problème scientifique, à donner l'intérêt de la leçon, à réaliser des expériences, à communiquer, présenter et interpréter les résultats. Le message véhiculé doit être en accord avec le programme officiel.

FICHE PÉDAGOGIQUE DE PRÉPARATION DE LA LEÇON

| | | | |
|--|---|--|----------------|
| ETABLISSEMENT | | Nom de l'enseignant : Mlle Kana | |
| THEME : III | LE MONDE MICROBIEN | | |
| CHAPITRE : XIV | LES DEFENSES DE L'ORGANISME | Date | |
| TITRE DE LA LECON N°2 | IMMUNITE SPECIFIQUE OU ACQUISE | Classe | 3 ^e |
| | | Effectif | |
| | | Durée | 2h |
| | | Période | |
| OBJECTIF PEDAGOGIQUE OPERATIONNEL | Décrire le mécanisme de l'immunité spécifique | | |

BIBLIOGRAPHIE :

- Programme officiel P 22.
- Biologie Humaine 3^{ème}. (R. DJAKOU).
- Sciences de la Vie et de la Terre 3^{ème}. (Collection Planète Vivante).

| Étapes | OPI | Contenu de l'OPI | Matériel | Activités | | Évaluation | Durée |
|--------------|----------------------------------|--|--|---|--|------------|-------|
| | | | | Enseignant | Elèves | | |
| Introduction | 1- Etablir le contrat didactique | <ul style="list-style-type: none"> -Décrire correctement la réaction d'allergie -Donner le déterminisme exact du groupe sanguin - Décrire la notion de facteur rhésus -Citer tous les types de greffes -Définir correctement les notions de soi et de non soi | Programme officiel, P 22 Livre de l'élève (Planète vivante) | <p>Ecriture du titre au tableau et dans le cahier de texte</p> <p>Communiquer les OPI et les faire expliciter</p> | Recopie le titre dans leur cahier, ainsi que les OPI | | 20 mn |

| | | | | | | | |
|--|--------------------------|---|---|--|--|--|--|
| | 2-Vérifier le pré requis | <p><u>Pré requis 1</u> : La phagocytose n'évolue pas toujours vers la destruction de l'agent étranger à l'organisme</p> <p><u>Pré requis 2</u> : Les variantes du système immunitaire</p> | Cours et apprentissage antérieur -Vécu quotidien | -Pose les questions de l'évaluation diagnostique | <p><u>Réponse 1</u> les microbes se multiplient et envahissent l'organisme et l'organisme met en place la défense spécifique</p> <p><u>Réponse 2</u> Le système immunitaire inné ou non spécifique ou naturel et le système immunitaire spécifique</p> | <p>Evaluation diagnostique</p> <p><u>Question 1</u> Dire exactement ce qui s'en suit quand le phagocyte n'arrive pas à détruire la bactérie ?</p> <p><u>Question 2</u> Citer les variantes du système immunitaire</p> | |
|--|--------------------------|---|---|--|--|--|--|

| | | | | | |
|-------------------------------------|--|------------------|--|---|---|
| 3-Déterminer l'intérêt de la leçon | <p><u>Intérêt de la leçon :</u></p> <p>Eviter les accidents survenus lors des transfusions sanguines, des greffes d'organes, et des mariages incompatibles</p> | Vécu quotidien | <p><u>Activité 1:</u> Une femme souffre d'une anémie sévère. Son médecin lui fait comprendre qu'il lui faut nécessairement un donneur compatible</p> | <p><u>Réponse 3</u> Pour éviter les accidents dus à l'incompatibilité</p> | <p><u>Question 3</u> Donner la raison pour laquelle il lui faut nécessairement un donneur compatible.</p> |
| 4-Formuler le problème scientifique | <p><u>Problème scientifique :</u></p> <p>Explication les causes de l'incompatibilité des groupes sanguins, des facteurs rhésus et des greffes d'organes ?</p> | Situation de vie | <p><u>Activité 2;</u> Après examen, le médecin déclare que son sang est compatible avec celui de son fils et pas avec celui de sa fille.</p> | <p><u>Réponse 3</u> Parce qu'elle serait du même groupe sanguin que son fils et pas du même groupe que sa fille</p> | <p><u>Question 3</u> Identifier la cause possible de cette situation.</p> |

| | | | | | | | |
|---|--|---|--|---|--|---|--|
| <p style="text-align: center;">Développement</p> | <p>Décrire correctement la réaction d'allergie</p> | <p>1-les allergies Une allergie est une réaction anormale et inadaptée lors de la rencontrer de l'organisme avec une substance antigénique appelée allergène, substance avec laquelle cet organisme a déjà été en contact. Les allergènes sont variés on peut citer : les médicaments, les aliments, la poussière Une réaction allergique se caractérise par des démangeaisons, des gonflements, un rhume ou une éruption cutanée.</p> <p>Mécanisme de l'allergie La réaction allergique est déclenchée par le contact avec un antigène spécifique ou allergène, non pathogène pour la plupart des sujets. Cette réaction se fait en deux temps. -Lors du premier contact avec l'antigène, l'organisme est sensibilisé et fabrique des anticorps spécifiques. -Lors du deuxième contact avec l'antigène, la réaction anticorps antigène produit une hypersensibilité que l'on appelle aussi crise d'allergie. Le sujet allergique réagit de manière intense en provoquant une décharge de substances ayant effet inflammatoire. Pour bloquer l'allergie il faut arrêter la sécrétion d'anticorps anti allergène.</p> | <p style="text-align: center;">Livre de l'élève (Planète vivante) Biologie Humaine 3^{ème}. (R. DJAKOU)</p> | <p>Ecrit le titre et dicte l'OPI <u>Activité 3</u> Sumo consomme les pommes de France pour la deuxième fois depuis sa naissance et immédiatement après son corps se couvre de gros boutons qui démangent, alors que la première fois il n'avait rien remarqué de pareille. Pose les questions de l'évaluation formative Corrige les réponses Procède aux remédiations et/ou renforcement si nécessaire</p> | <p>Recopient le titre et l'OPI</p> <p><u>Réponse 4</u> C'est une réaction d'allergie</p> <p><u>Réponse 5</u> démangeaisons, des gonflements, un rhume ou une éruption cutanée.</p> | <p>Evaluation formative</p> <p><u>Question 4</u> Nommer cette réaction</p> <p><u>Question 5</u> Citer quatre caractéristiques d'une allergie ?</p> | <p style="text-align: center;">70 mn</p> |
|---|--|---|--|---|--|---|--|

| | | | | | | |
|--|---|--|---|--|---|--|
| | <p>Donner le déterminisme exact du groupe sanguin</p> | <p>2- les groupes sanguins</p> <p>A la suite d'un accident, un individu peut être emmené à perdre beaucoup de sang. Dans ce cas on est obligé de procéder à une transfusion sanguine. Autrefois, les transfusions sanguines provoquaient beaucoup d'accidents ; c'est ce qui a entraîné la découverte des groupes sanguins. En effet chaque individu porte sur la membrane de ses globules rouges des antigènes (les agglutinogènes). Il existe deux types d'agglutinogènes (agglutinogène A et agglutinogène B). Un individu peut avoir l'un des deux antigènes ou les deux à la fois.</p> <p>De plus chaque personne possède dans son plasma ou dans son sérum des anticorps (les agglutinines) qui détruisent les antigènes qui ne sont pas les siens. Nous avons donc les groupes sanguins résumés dans le tableau1 suivant.</p> | <p>Ecrit le titre et dicte l'OPI</p> <p><u>Expérience 1</u></p> <p>Si on mélange deux gouttes de sang provenant de deux personnes différentes sur une lame de verre, au microscope on va observer :</p> <p>-un mélange parfait ou -des sortes de grumeaux</p> <p>Remplissage du Tableau 1 et annotation du schéma de la planche 1</p> <p>Pose les questions de l'évaluation formative</p> <p>Corrige les réponses</p> <p>Procède aux remédiassions et/ou renforcement si nécessaire</p> | <p>Recopient le titre et l'OPI</p> <p><u>Réponse 6</u></p> <p>Mélange parfait = compatibilité</p> <p>Grumeaux = agglutination = incompatibilité</p> <p><u>Réponse 7</u></p> <p>chaque individu porte sur la membrane de ses globules rouges des antigènes ou agglutinogènes qui déterminent son groupe sanguin</p> | <p><u>Question 6</u></p> <p>Donner la signification du mélange parfait et de l'apparition des grumeaux</p> <p><u>Question 7</u></p> <p>Quel est le déterminisme du groupe sanguin</p> | |
|--|---|--|---|--|---|--|

| | | | | | | | |
|--|--|---|--|--|---|---|--|
| | <p>Expliquer la notion de facteur rhésus</p> | <p>3-le facteur rhésus</p> <p>Les accidents survenant lors des transfusions sanguines peuvent se produire entre deux individus d'un même groupe sanguin. Il y a donc d'autres incompatibilités dues au facteur rhésus. En effet l'individu qui porte sur ses hématies l'antigène rhésus est rhésus positif (Rh⁺) et l'individu qui ne porte pas le facteur rhésus est rhésus négatif (Rh⁻).</p> <ul style="list-style-type: none"> -un individu rhésus négatif peut donner son sang à un autre rhésus négatif - un individu rhésus négatif peut donner son sang à un autre individu rhésus positif - un individu rhésus positif ne peut pas donner son sang à un individu rhésus négatif <p>Remarque</p> <p>Lorsqu' une mère rhésus négatif porte un enfant rhésus positif son organisme va fabriquer des anticorps anti rhésus qui vont combattre toutes les grossesses avenir. La carte de groupe sanguin est toujours accompagnée du facteur rhésus.</p> <p>Exemple : A⁺ : groupe A, rhésus positif / O⁻ : groupe O, rhésus négatif</p> | | <p><u>Activité 4:</u></p> <p>Une femme a déjà fait quatre fausses couches après le premier enfant. Après examen, on constate qu'elle est rhésus négatif et son mari rhésus positif.</p> <p>Pose les questions de l'évaluation formative</p> <p>Corrige les réponses</p> <p>Procède aux remédiations et/ou renforcement</p> | <p><u>Réponse 8</u></p> <p>L'incompatibilité des rhésus de ce couple</p> <p><u>Réponse 9</u></p> <p>Lorsqu' une mère rhésus négatif porte un enfant rhésus positif son organisme va fabriquer des anticorps anti rhésus qui vont combattre toutes les grossesses avenir</p> | <p><u>Question 8</u></p> <p>Donner la cause possible de cette situation</p> <p><u>Question 9</u></p> <p>Donner la raison pour laquelle une femme rhésus négatif ne doit pas épouser un homme rhésus positif ?</p> | |
|--|--|---|--|--|---|---|--|

| | | | | | | | |
|--|--|---|--|--|---|---|--|
| | <p>Citer tous les types de greffes</p> | <p>4-les greffes Une greffe est un transfert d'organe ou de tissus dans un même organisme ou entre des organismes différents. Il peut arriver que tissu greffé (le greffon), soit rejeté par le receveur, on parle alors de rejet. Il existe plusieurs catégories de greffes qui sont :</p> <p>-les autogreffes : c'est le même sujet qui est à la fois donneur et receveur</p> <p>-les homogreffes : le donneur et le receveur, de la même espèce n'ont aucun lien</p> <p>-les isogreffes : le donneur et le receveur sont de vrais jumeaux</p> <p>-les hétérogreffes : le donneur et le receveur n'appartiennent pas à la même espèce</p> | <p>Livre de l'élève (Planète vivante) Biologie Humaine 3^{ème}. (R. DJAKOU)</p> | <p><u>Activité 5:</u> Un enfant a une plaie profonde au bras, son père a déjà essayé plusieurs fois sans succès de combler la plaie avec un greffon qu'il a prélevé sur lui.</p> <p>Annotation du schéma de la planche 3</p> <p>Pose les questions de l'évaluation formative</p> <p>Corrige les réponses</p> <p>Procède aux remédiations et/ou renforcement</p> | <p><u>Réponse 10</u> Incompatibilité entre le père et son fils</p> <p><u>Réponse 11</u> -les autogreffes -les homogreffes -les isogreffes -les hétérogreffes</p> | <p><u>Question 10</u> Donner la cause de l'échec de cette greffe</p> <p><u>Question 11</u> citer les types de greffes ?</p> | |
|--|--|---|--|--|---|---|--|

| | | | | | | |
|---|--|--|---|---|---|--|
| <p>Définir les notions de soi et de non soi</p> | <p>5-le soi et le non soi</p> <p>Le rejet de certains greffons et les accidents transfusionnels prouve que l'organisme reconnaît Le non soi introduit dans l'organisme devient un antigène et provoque immédiatement une réponse immunitaire spécifique.</p> <p>Il existe deux types de réponses immunitaires spécifiques :</p> <p>-La réponse cellulaire qui a pour support les lymphocytes T</p> <p>-La réponse humorale qui a pour support les lymphocytes B (qui vont sécrétés les anticorps).</p> <p>Les anticorps sont protéines sécrétées par les lymphocytes B dans le plasma lors de l'introduction d'un antigène dans l'organisme. Parmi les anticorps il y a les antitoxines qui luttent contre les toxines et les interférons qui sont des protéines spécifiques sécrétées contre les virus.</p> | <p>Livre de l'élève (Planète vivante) Biologie Humaine 3^{ème} . (R. DJAKOU)</p> | <p>Pose les questions de l'évaluation formative</p> <p>Corrige les réponses</p> <p>Procède aux remédiassions et/ou renforcement</p> | <p><u>Réponse 12</u> le soi est ce qui appartient à l'organisme et ce qui ne lui appartient pas est le non soi.</p> | <p><u>Question 12</u> Donner la différence entre le soi et le non soi ?</p> | |
|---|--|--|---|---|---|--|

| | | | | | |
|--|---|---|--|--|---|
| <p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Décrire correctement toutes les étapes de l'infection microbienne</p> | <p><u>6-Les différentes étapes de l'infection microbienne</u></p> <p>OPI 5: Décrire correctement toutes les étapes de l'infection microbienne</p> <p>Au niveau de la blessure, il y a un combat intense entre les microbes et l'organisme. Si les microbes sont plus faibles, ils sont tués et il se forme du pus composé de débris cellulaires, des leucocytes et des microbes tués ou vivants. Le pus donne un abcès.</p> <p>Si les microbes sont plus forts que l'organisme, ils progressent et atteignent les ganglions lymphatiques. Dans ce cas les ganglions du cou, de l'aîne ou de l'aisselle gonflent et deviennent douloureux selon le lieu de l'infection. Au niveau des ganglions se déroule un combat intense entre les microbes et les leucocytes. Ici les granulocytes sont aidés par d'autres catégories de leucocytes à savoir les macrophages et les lymphocytes.</p> <p>Si la barrière ganglionnaire est franchie, il ne reste plus que les leucocytes du foie et de la rate. Lorsqu'à leur tour les leucocytes du foie et de la rate sont dépassés, les microbes envahissent tout l'organisme et l'infection se généralise ; c'est la septicémie. Il peut arriver que le microbe lui-même n'envahisse pas l'organisme mais sécrète plutôt une toxine on parle dans ce cas de toxémie (tétanos et diphtérie).</p> | <p>Livre de l'élève (Planète vivante) Biologie Humaine 3^{ème}. (R. DJAKOU)</p> | <p>Pose les questions de l'évaluation formative</p> <p>Corrige les réponses</p> <p>Procède aux remédiations et/ou renforcement</p> | <p><u>Réponse 13</u> les microbes envahissent tout l'organisme et l'infection se généralise ; c'est la septicémie. Exemple : le paludisme, le SIDA Il peut arriver que le microbe lui-même n'envahisse pas l'organisme mais sécrète plutôt une toxine on parle dans ce cas de toxémie Exemple : tétanos et diphtérie</p> | <p><u>Question 13</u> Définir septicémie et toxémie ; donner un exemple dans chaque cas</p> |
|--|---|---|--|--|---|

| | | | |
|-------------------|---|---|-------------|
| Conclusion | <p>Lorsque ce système naturel est vaincu, le système immunitaire spécifique prend le relais. Lorsque ces deux systèmes sont vaincus, l'organisme a besoin d'une aide exogène (plantes médicinales, médicaments et bien d'autres).</p> | <p>Quels sont les différents types de réponses immunitaires spécifiques ?</p> | <p>10mn</p> |
|-------------------|---|---|-------------|

Tableau 1 : Les différents groupes sanguins du système ABO

| <i>Groupes sanguins</i> | <i>Agglutinogène sur les hématies</i> | <i>Agglutinines dans le plasma</i> |
|-------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| A | A | Anti A |
| B | B | Anti B |
| AB | A et B | Aucun |
| O | Aucun | Anti A et Anti B |

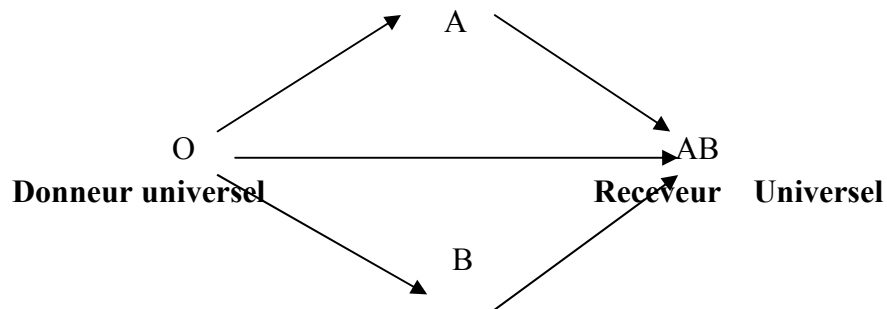


Planche 1 : Les possibilités de transfusions sanguines suivant les groupes sanguin du système ABO

Planche 2 : Les possibilités de transfusions sanguines et de mariages suivant le facteur rhésus

| Donneur ou Mari | Receveur ou Femme | Résultat |
|-----------------|-------------------|----------|
| Rh- | Rh- | accepté |
| Rh- | Rh+ | accepté |
| Rh+ | Rh+ | accepté |
| Rh+ | Rh- | Refusé |

Planche 3 : Les types de greffes

| Donneur | Receveur | Types de greffe | Résultat |
|---------|----------------------------------|-----------------------------|----------|
| Tamo | Tamo | Autogreffe | Accepté |
| | Son frère jumeau (vrais jumeaux) | Isogreffe | Accepté |
| | Amina | homogreffe ou allogreffe | Refusé |
| | Chien | hétérogreffe ou xéno greffe | Refusé |

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

Ce travail avait pour objectif de valoriser les plantes médicinales, en particulier *Oxalis barrelieri*, dans le but de confirmer son usage traditionnel. Il ressort que :

-les solvants (mélange chlorure /méthanol et méthanol pur) sont ceux qui extraient le plus de composés dans *Oxalis barrelieri* mais à très faible rendement ;

-le test phytochimique des extraits organique de *Oxalis barrelieri* a révélé les métabolites ; à savoir les triterpènes, des phénols, des flavonoïdes, des lipides, des Tanins, des Saponines et l'absence des Alcaloïdes ;

-les tests biologiques ont montré que les extraits de *Oxalis barrelieri* n'ont pas d'effet bactéricide, ni bactériostatique sur les cinq souches testées.

PERSPECTIVES

Nous nous proposons, dans un avenir proche, d'approfondir ce travail. Ceci consistera à étendre nos recherches sur :

- ✓ la réalisation du Fractionnement des extraits ;
- ✓ l'évaluation de la toxicité des extraits ;
- ✓ l'évaluation de l'activité antimicrobienne de ces extraits sur d'autres agents pathogènes;
- ✓ l'évaluation de l'activité antioxydant ;
- ✓ l'isolement des molécules pures ; et la détermination de leurs structures.

BIBLIOGRAPHIE

- Aliyiannis N., Kalpotzakis E., Mitaku S., Chinou I. B. (2001) Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum species*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **40**: 4168-4170.
- Bais, Harsh P., Vepachedu, Ramarao et Vivanco J. M. (2003) Root specific elicitation and exudation of fluorescent β -carboline in transformed root cultures of *Oxalis tuberosa*. *Plant Physiology and Biochemistry* 41 (4): 345-353. [doi:10.1016/S0981-9428\(03\)00029-9](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(03)00029-9).
- Baron S. (1996) *Medicinal Microbiology*. 4th edition, Galveston : 17p.
- Bassez M-P., 2010. La biodiversité des milieux extrêmes. Université de Strasbourg. IUT Robert Schuman 49p www.fetedelascience.fr consulté le 28-10-2014.
- Baudry C., Brezellec H., (2006) *microbiologie-immunologie*. Wolterskluwer France: éditions porphyre 1, deuxième édition, rue Eugene et Armand-Peugeot, ISBN 2-915585-26-1.
- Biyiti L.F., Meko'o D.J., Tamze V., Amvam Z.P.H. (2004) Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales Camerounaise. *Pharmacologie Médecine Traditionnelle Africaine*. 13:11-20.
- Breukink et Kruijff (2006) Lipid II as a target for antibiotic. *Natural Review Drug Discovery*, 5(4): 321-322.
- Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A. (2004) Jawetz, Melnick et Adelberg's *Medical Microbiology*. 23rd Edition. International Edition, Singapore, PP167-168.
- Bruneton J. (1999) *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. 3^{ème} Edition Technologie & Documentaire. Paris, PP 101-120.
- Cos P., Vlietinck A. J., Berghe D. V., Maes L. (2006) Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger *in vitro* proof-of-concept. *Journal of Ethnopharmacology*, **106**:290–302.
- Cowan M.M. (1999) Plants products as antimicrobial activity. *Clinical Microbiology Reviews*, **12**(4):564-582.
- Davin A., Monnet D., Saux P., Bosi C., Charrel R., Barthelemy A. et Bollet C. (1996) molecular epidemiology of *entérobactériaérogènes* acquisition: one –year prospection study in two intensive care units. *Journal of clinical microbiology*, 34:1474-1480.

- Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E., Quentin R. (2007) *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Elsevier Masson S.A.S, Paris. P 250-316.
- Enock K.P., Sulaiman M.R., Somchit M.N., Hidayat M.T., Mdzuki (2006) Effets hypoglycémique et antidiabétique d'une solution aqueuse et d'éthanol de l'extrait de *Oxalis barrelieri* dans les modèles de rats diabétiques induit par la streptozotocine. Actes de la 21^e réunion scientifique de la société de pharmacologie et de physiologie, 42 p.
- Esther N. A., Fernand-Nestor Tchuengue Fohouo & Champlain Djieto-Lordon (2015) Activité de Butinage et de Pollinisation de apis *Mellifera adansonii Latreille* (Hymenoptera : Apidae) sur les fleurs d'*Oxalis barrelieri* (Oxalidaceae) à Yaoundé (Cameroun). *Entomologie Faunistique-Faunistic Entomology* 68, 101-108. <https://www.google.com/>
- Fiorucci S. (2006) Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice, 211p.
- Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J. (2005) Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp 121-216.
- Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., Api A.M. (2001) The *in vitro* dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*. **39**: 153-162.
- Funk, V., Hollowell, T., Berry, P., Kelloff, C., Alexander, S. N. (2007) Checklist of the Plants of the Guiana Shield (Venezuela: Amazonas, Bolivar, Delta Amacuro; Guyana, Surinam, French Guiana). *Contributions from the United States National Herbarium*, 55: 1-580.
- Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A.M. (2001) le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie-homeopathie. Technologie et Documentaire. 272p.
- Hamidi A. (2013) Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*. Mémoire Master II, 86P, PP1.
- Harbone J.B. (1976) *Phytochemical methods. A guide of modern techniques of plants analysis*. Chapman and Hall, London, 150P.
- Alonso J., Bejot J., Lavergne J., Mazigh D. « Bactériologie », *Encyclopaedia universalis* en ligne 1, consulté le 16 avril 2016. URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/bacteriologie/>.

- Tagne M., Kamgang R., Essame P., Noubissi P. (2015) Activity of *Oxalis barrelieri* aqueous extract on rat secretory diarrhea and intestine transit. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 5 (01): 058-062.
- Kareem S. O., Akpan I., and Ojo O. P. (2008) Antimicrobial activities of *Calotropis procera* on Selected Pathogenic Microorganisms. *African Journal of Biomedical Research*. **11**: 105-110.
- Kil H.Y., Seong E.S., Ghimire B.K., Chung I.M., Kwon S.S., Goh E.J., Heo K., Kim M.J., Lim J.D., Lee D., Yu C.Y. (2009) Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract. *Food Chemistry*. **115**:1234-1239.
- Konkon N.G., Simaga D., Adjoungoua A.L., N'Guessan K.E., Ziriki G.N., Koné B.D. (2006) Etude phytochimique de *Mitragynaine* (willd.) O.KTZE (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. *Pharmacologie Médecine Traditionnelle Africaine*. Vol. XIV, PP. 73-80.
- Larpent J.P., Gourgaud M. (1985). *Eléments de microbiologie*. Collection Enseignement des sciences, Edition Hermann, Paris, pp 146.
- Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F., Tian Y. (2007) Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*. **102**:771-776.
- Londapeu M.C.G. (2015) Effets anti-sécrétoires de l'extrait aqueux des feuilles de *Oxalis barrelieri* (Oxalidaceae) sur les ulcères gastriques induits chez les rats. Mémoire D.I.P.E.S.II
- Madigan M., Martinko J. (2007) *Brock-Biologie des micro-organismes*. 11ème édition. Pearson Education. France. 1047 P.
- Mallea M., Mahamoud A., Chevalier J., Alibert-Franco S., Brouant P., Barbe J. et Pages J. M. (2003) Alkylaminoquinolines inhibit the bacterial antibiotic efflux pump in multidrug-resistant clinical isolates. *Biochemical Journal*, 376:801-805.
- Maurice V. (2008) Dictionnaire de bactériologie vétérinaire : <http://www.bacdico.net> consulté le 14/05/2014.
- Meyer A., Deiana J. (1988) *Cours de microbiologie générale*. Doin éditeurs, Paris. p 201-224, 234.
- Newton S.M., Lau C., Gurucha S.S., Besra G.S. et Wright C.W. (2002) The evaluation of forty-three plant species for *in vitro* antimycobacterial activities; isolation of active constituents from *Psoralea corylifolia* and *Sanguinaria canadensis*. *Journal of ethnopharmacology*, 79:57-67
- Odebiyi, O., Sofowora E.A. (1978) Phytochemical screening. *Nigeria Medical Plants*. *Lloydia*, 41: 41-234.

- Omulokoli, E., Khan, B. and Chhabra, S. C. (1997) Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. **56**:133-137 .
- O.M.S. (2002) Organisation Mondiale de la santé. Rapport sur la santé dans le monde : réduire les risques et promouvoir une vie saine. <http://www.who.int/whr/2002/fr/index.html>.
- Pebret F.,(2003) maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Edition heures de France, Paris. P543.
- Perry J.J., Staley J.Tetlory S. (2004) Introduction à la microbiologie. Edition du renouveau pédagogie. Canada. 945P.
- Peronny S. (2005) Laperception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*). Thèse de doctorat, 151P.
- Rajaram S.S. and Ashvin G.G. (2013) Microbiologie, 2eme Edition. Deboeck, 1014P.
- Sathish Kumar M., Selvakumar S., Rao M.R.K et Anbuselvi S. (2013) Preliminary phytochemical analysis of *Dodonaea viscosa* leaves. *Asian journal of plant science and research*, **3(1)**:43-46.
- Singleton P., Sainsbury D.(1990) Bactériologie. Masson Paris Milan Barcelone Mexico, Pp 10-105.
- Stern J. L., Hagerman A. E., Steinberg P. D., Mason P. K. (1996) Phlorotannin-protein interactions. *Journal of Chemical Ecology*. **22**: 1887-1899.
- Suresh B., Sriram S., Dhanaraj S.A., Elango K., Chinnaswamy K. (1997) Anticandidal activity of *Santolimachamaecyparissus* volatile oil. *Journal of Ethnopharmacology*, **55**: 51-159.
- Smith, Albert C. (1985) *Flora Vitiensis nova*: a new flora of Fiji. National Tropical Botanical Garden, Lawai, Kauai, Hawaii. Volume 3. 758 P:PP. 624-625.
- Stefanova T., Nikolova N., Michailova A., Mitov I., Iancovii., Zlabinger g.I., Neychev H.(2007) Enhanced resistance to *Salmonella enteric serovartyphimurium* infection in mice after coumarin treatment. *Microbes and infection*. **9**: 7-14.
- Takeo O., Masato K., Kelko S., Rika O., Junko M., Hiroshi I., Hiroyuki K., Toshi A., Tosshifumi A., Shigeo M. (2004) *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activities of tricyclic ketolide Te-802 and its analogs. *Journal of Antibiotics*, **57**:518-527.
- Tanah B. (2010). *Oxalis barrelieri*- medical weeds to treat high blood pressure. [Conten-share.html](#).

-Tangara J. H. S., Adjei O., Allen B. W., et Portaels F. (2000) *In vitro* activity of ciprofloxacin, sparfloxacin, ofloxacin, amikacin and rifampicin against Ghanaian isolates of *Mycobacterium ulcerans*. *Journal Antimicrobial Agents Chemoter*, 45 (2):231-233.

-Tortora G.J., Funke B.R., et Case C.L. (2003) *Introduction à la microbiologie*. Edition du nouveau pédagogie. Canada. 945P.

SITES INTERNET

-Cirad (2007) <http://www.les.beaux.jardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bacteries.htm>
[http://plants.usda.gov/java/classification?Source=display &classid=OXBA](http://plants.usda.gov/java/classification?Source=display&classid=OXBA). Consulté dimanche 03 Avril 2016 à 14h20min.

-<http://www.futur-sciences.com/magazines/santé/infos/dico/d/médecine-bacteries.101>
[http://plants.usda.gov/java/classification?Source=display &classid=OXBA](http://plants.usda.gov/java/classification?Source=display&classid=OXBA). Consulté dimanche 03 Avril 2016 à 10h20min.

-<http://www.maxicours.com/soutien-scolaire/chimie/terminale-s/182131.html> Consulté dimanche 03 Avril 2016 à 10h20min.

-Cirad (2007) [http://plants.usda.gov/java/classification?Source=display &classid=OXBA](http://plants.usda.gov/java/classification?Source=display&classid=OXBA). Consulté dimanche 03 Avril 2016 à 15h30min.

-Cirad (2007) <http://plantes-rizieres-guyane.cirad.fr/dicotyledones/oxalidaceae/Oxalis:barrelieri> (consulté dimanche 03 Avril 2016 à 11h30min).

ANNEXES



Boite de pétri

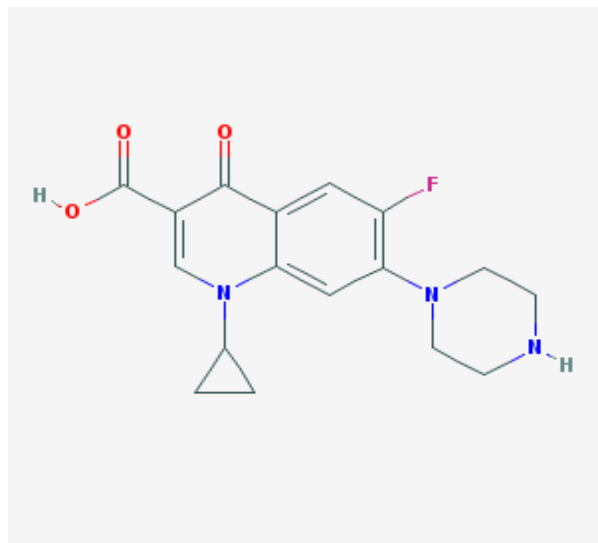
Photo prise par KANA en 2016



Photo de la hotte biologique prise par KANA en 2016



Photo de l'éluion Prise par KANA en 2016



Ciprofloxacin