

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mohamed Khider Biskra

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

Réf: .../....

**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie et Biologie Moléculaire

Thème

**L'effet biologique des écorces des racines
de *Capparis spinosa* L. sur les
entérobactéries causant la diarrhée**

Présenté par : KHADRAOUI Nadia

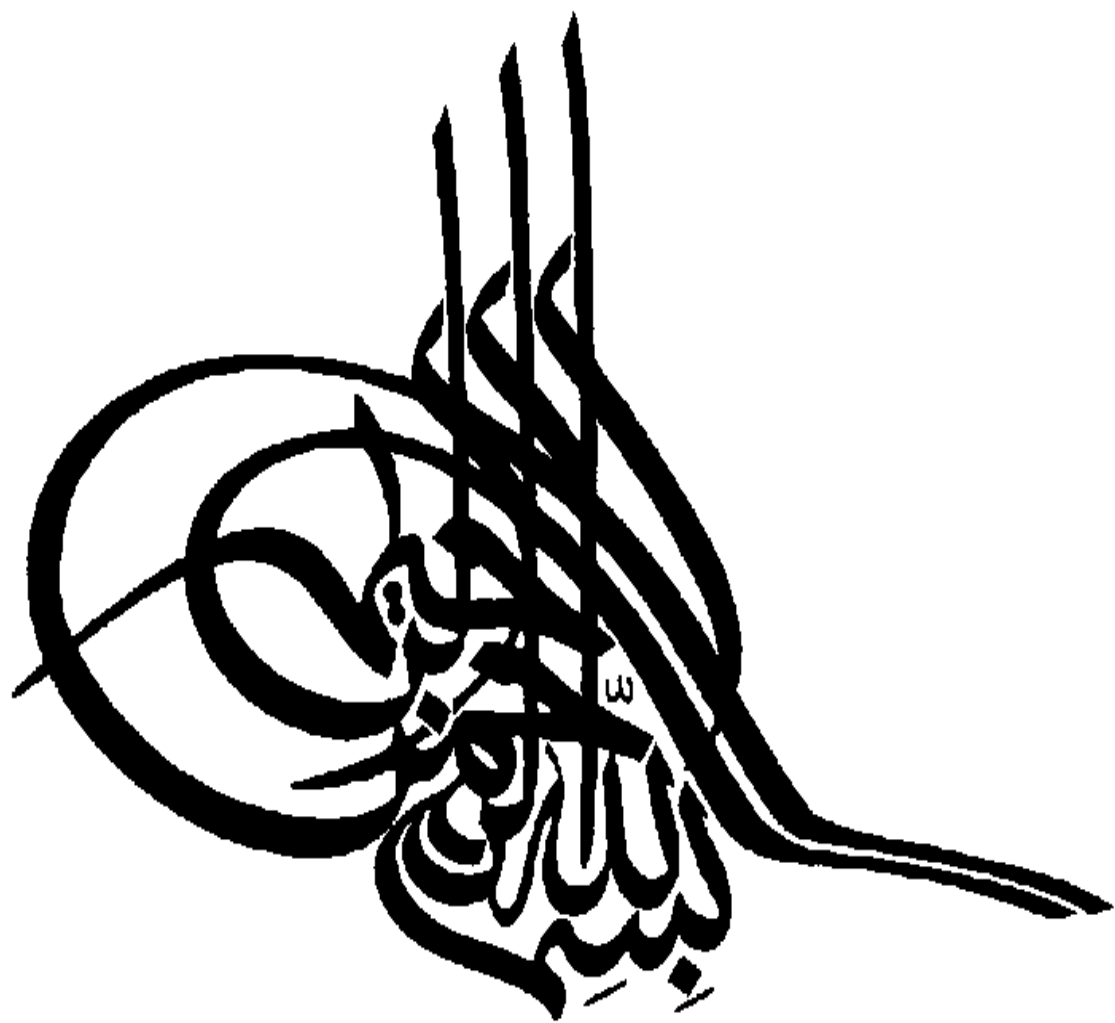
Devant le jury :

Président : M^{me} BENCHERIF Salma

Promoteur : M^{me} MEDDOUR Asma

Examineur : M^{me} TRABSA Hayat

Année Universitaire 2013/ 2014



REMERCIEMENTS

Je remercie le bon Dieu, le tout puissant d'avoir données la force, la volonté et le courage pour finir ce travail.

Mes remerciements les plus chaleureux vont tout particulièrement à ma promotrice, M^{me} Meddour Asma pour m'avoir encadré et dirigé avec une grande rigueur scientifique. La qualité de sa formation et de ses conseils, le soutien et la confiance qu'elle m'accordés, me permis de réaliser cette période de recherche dans les meilleurs conditions.

Les membres du jury, Recevez mes plus vifs remerciements pour avoir accepté de juger ce travail, et pour le temps consacré à l'évaluation de ce travail.

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de bactériologie de l'hôpital Hakim- Saâdan où les souches bactériennes ont été isolées, et l'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée je tiens également à remercier tous l'équipe de laboratoire.

C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres des Laboratoires de département des sciences de la nature et de la vie El-Hadjeb Biskra.

Merci à Mes amis et mes collègues pour leur soutien, leur aides, et pour l'ambiance studieuse, fraternelle et sympathique qui a toujours régné entre nous.

Enfin, mes remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDECACE

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

♥ *A mes chers parents* ♥

♥ *A ma famille* ♥

♥ *A mes enseignants* ♥

♥ *A mes amis* ♥

♥ *À tous ceux qui aiment la science* ♥

♥ *A vous* ♥



Nadia

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Première partie : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 01. *CAPPARIS SPINOSA*

1.1. Généralités.....	01
1.2.	01
1.3. Nomenclature.....	01
1.4.	02
1.4.1. Les feuilles.....	02
1.4.2.	02
1.4.3.	03
1.4.4.	03
1.5.	03
1.6.	03
1.7.	04
1.7.1.	

primaires.....	04
1.7.2. Les métabolites	
secondaires.....	04
1.7.2.1. Les acides	
phénoliques.....	04
1.7.2.2. Les	
flavonoïdes	04
1.7.2.3. Les glucosinolates.....	04
1.7.2.4. Les alcaloïdes.....	05
1.7.2.5. Les composés volatils	
.....	05
1.8. Utilisation.....	05
1.8.1. Usage en médecine	
traditionnelle.....	05
1.8.2. Utilisation de l'écorce des racines en médecine traditionnelle	
.....	06
1.8.3. Autre usage de la	
plante.....	07
1.9. Activité biologique	07
1.9.1. Activité inflammatoire.....	08
1.9.2. Activité	
protectrice.....	08
1.9.3. Activité anti-	
hépatotoxique.....	08
1.9.4. Activité	
antimicrobienne.....	08
1.9.5. Autre activités.....	08

CHAPITRE 02. LES ENTÉROBACTÉRIES

2	.1.	Définition	
.....			09
2.2.	Classification.....		09
2.3.	Habitat et mode de vie.....		11
2.4.	Morphologie et structure de surface.....		11
2.4.1.	La paroi.....		11
2.4.2.	Les flagelle.....		12
2.4.3.	Les pili (Fimbriae).....		12
2.5.	Caractères cultureux.....		12
2.6.	Caractères biochimiques.....		13

CHAPITRE 03. GÉNÉRALITÉS SUR LA DIARRHÉE

3.1.	Définition.....		14
3.2.	Les cause de diarrhée.....		14
3.3.	Les types de la diarrhée		14
3.3.1.	La diarrhée dite « toxinique » (tableau cholérisforme).....		14
3.3.2.	La diarrhée dite « invasive » (tableau dysentérisforme).....		14

Sommaire

3.4.	Le mode de Transmission des facteurs pathogènes	14
3.5.	Mécanisme de la diarrhée	15
3.5.1.	les agents toxinogènes	15
3.5.2.	les agents invasifs	15

Deuxième partie : ETUDE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE 04. MATÉRIEL ET MÉTHODES

4.1.	Récolte	16
4.2.	Séchage	16
4.3.	L'extraction	17
4.3.1.	Broyage	17
4.3.2.	Principe de macération	17
4.3.3.	Préparation des extraits organiques	17
4.3.3.1.	Principe	17
4.3.3.2.	Mode opératoire	17
4.3.4.	La conservation des extraits bruts	18
4.4.	Les tests préliminaires	19

4.4.1.	Détection	des	
alcaloïdes.....			19
4.4.2.	Détection	des	hydrates
carbone.....			19
4.4.3.	Détection	des	glycosides
.....			19
4.4.4.	Détection des saponines.....		19
4.4.5.	Détection	des	
phytosterols.....			20
4.4.6.	Détection	des	triterpènes
.....			20
4.4.7.	Détection	des	
diterpènes.....			20
4.4.8.	Détection	des	phénols
.....			20
4.4.9.	Détection	des	tannins
.....			20
4.4.10.	Détection des flavonoïdes.....		20
4.4.11.	Détection des protéines.....		20
4.5.	L'isolement	et	l'identification
.....			des entérobactéries
			21
4.5.1.	Prélèvements		21
4.5.2.	Traitement	des	
prélèvements.....			21
4.5.2.1.	Préparation	d'une	suspension homogène à partir des
selles.....			21
4.5.2.2.			Examen
direct.....			21
4.5.2.3.	Analyse bactériologie.....		22
4.5.3.	Identification	des	souches
isolées.....			22

4.5.3.1.	Colorations	doubles	ou
différentielles.....23			
4.5.3.2.	Examen		biochimiques
.....23			
4.5.3.2.1.	Test	de	catalase (peroxydase)
.....23			
4.5.3.2.2.	Test d'oxydase	24
4.5.3.2.3.	Galerie	Api	20
E.....24			
4.6.	Tests	de	l'activité
antibactérienne.....27			
4.6.1.	Préparation	du	milieu de culture
(MH).....27			
4.6.2.	Préparation des disques.....27		
4.6.3.	Stérilisation		du
matériel.....27			
4.6.4.	Préparation des dilutions d'extraits des écorces des racines de <i>C. spinosa</i>28		
4.6.5.	Préparation	des	suspensions
bactériennes.....28			
4.6.6.	Méthode	de	diffusion à partir d'un disque
solide.....28			
4.6.6.1.	Test	de	sensibilité aux antibiotiques :
antibiogramme.....28			
4.6.6.2.	Test	de	sensibilité aux extraits bruts des plantes :
aromatogramme.....29			

CHAPITRE 05. RÉSULTATS ET DISCUSSION

5.1. Récolte.....	32
-------------------	----

5.2.						
Séchage.....						32
5.3. Extraction.....						32
5.4.					Tests	
préliminaires.....						33
5.5.	L'isolements	et	identification	des	souches	
.....						35
5.5.1.	Isolement	et	purification	des	souches	
.....						35
5.5.2.	Identification		des	souches	isolées	
.....						35
5.5.2.1.	Observation macroscopique					35
5.5.2.2.		Observation			microscopique	
.....						37
5.5.2.3.	Identification biochimiques		des souches	isolées		38
5.6. Activité antimicrobienne.....						40

Conclusion**Références bibliographiques****Annexes**

Tableau 01. Classification botanique de <i>Capparis spinosa</i>	01
Tableau 02. Quelques utilisations traditionnelles des différentes parties de <i>C.spinosa</i>	06
Tableau 03. Les écorces des racines et leur forme d'utilisation	07
Tableau 04. Classification des espèces d'Entérobactéries les plus intéressantes en bactériologie médicale.....	10
Tableau 05. Réactions biochimiques utilisées pour l'identification des entérobactéries	13
Tableau 06. Aspect et couleur de différents extraits des écorces des racines de <i>Capparis spinosa</i>	32
Tableau 07. Les composés qui pourraient contenir les différents extraits préparés.....	33
Tableau 08. Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans les extraits des écorces des racines de <i>Capparis spinosa</i>	34
Tableau 09. Résultats de lecture des galeries biochimiques API 20 E.....	39
Tableau 10. Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait éthérique.....	41
Tableau 11. Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait chloroformique	41
Tableau 12. Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait méthanolique	41
Tableau 13. Tableau de lecture de la galerie Api 20 E	

Liste des figures

Figure 01. Aspects morphologiques de <i>Capparis spinosa</i>	02
Figure 02. La distribution naturelle de câprier	03
Figure 03. I. structure de la paroi Gram négatif	11
Figure 04. Mécanismes de diarrhée d'origines infectieuses bactériennes.....	15
Figure 05. Photo de <i>Capparis spinosa</i> L.....	16
Figure 06. Matériel végétal.. ..	16
Figure 07. Extraction par polarité croissante de la poudre des écorces des racines <i>Capparis spinosa</i>	18
Figure 08. Galerie Api 20 E avant l'utilisation (témoin).....	25
Figure 09. La fiche de résultats.....	26
Figure 10. Préparation de la gélose MH	27
Figure 11. Le schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme	29
Figure 12. La lecture de résultat.....	31
Figure 13. Schéma représentant les différentes étapes de méthode de diffusion.....	31
Figure 14. Aspect des colonies d' <i>Escherichia coli</i>	38
Figure 15. Aspect des colonies de <i>Salmonella sp</i> sur milieu Hektoen	38
Figure 16. Aspect des colonies de <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur gélose nutritive	39
Figure 17. Aspect des colonies de <i>Shigella sp</i> sur milieu SS	39
Figure 18. Bacilles Gram négatif de (G×100)	40
Figure 19. Test catalase positif	40
Figure 20. La Galerie Api 20E d' <i>Escherichia coli</i>	41
Figure 21. La Galerie Api 20E de <i>Salmonella sp</i>	41
Figure 22. La Galerie Api 20E de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	42
Figure 23. La Galerie Api 20E de <i>Shigella sp</i>	42
Figure 24. L'effet de l'extrait éthérique, chloroformique, méthanolique sur la souche <i>Escherichia coli</i>	44

- Figure 25.** L'effet de l'extrait éthérique, chloroformique, méthanolique sur la souche *Salmonella sp.*.....45
- Figure 26.** L'effet de l'extrait éthérique, chloroformique, méthanolique sur la souche *Klebsiella pneumoniae*.....45
- Figure 27.** L'effet de l'extrait éthérique, chloroformique, méthanolique sur la souche *Shigella sp.*.....45
- Figure 28.** Photographies de la plante *Capparis spinosa*
- Figure 29.** Structure chimique de quercetine-3-O-[6''- α -L-rhamnosyl-6''- β -D-glucosyl]- β -D-glucoside
- Figure 30.** Structures des quelques composés chimiques de *Capparis spinosa*

ADH : Arginine déshydrolyse

AM : Amoxicilline

API : Appareillage et Procédé d'Identification

C. spinosa : *Capparis spinosa*

Ca : Calcium

Chl : Extrait de chloroforme

CTX : Cefotaxime

Cu : Cuivre

CZ : Cefazoline

DMSO : Diméthylsulfoxyde

E. coli : *Escherichia coli*

Ep : Extrait d'éther de pétrole

Fe : Fer

FeCl₃ : Trichlorure de fer

Fox : Cefoxitine

GEL : Gélatine

Glu : Glucose

H₂S : Dihydro-sulfure

HCL : Acide chlorhydrique

K : Potassium

KES : *Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Hafinia sp.*

LDC : Lysine décarboxylase

LPS : Lipopolysaccharide

MeOH : Extrait méthanolique

Mg : Magnésium

Liste des abréviations

MH : Muller Hinton

Milieu SS : Milieu salmonelle-shigelle

Mn : Manganèse

Na : Sodium

NaCl : Chlorure de sodium

NO₂ : Dioxyde d'azote

ODC : Ornithine décarboxylase

ONPG : Orthonitrophényl – B-D – galactopyranoside

OX : Oxydase

Ph : Potentiel hydrogène

TDA : Tryptophane désaminase

URE : Urée

Vp : Voges-Proskauer

Zn : Zinc

Les plantes médicinales sont à la fois un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention de substances actives, elles représentent une source de revenu non négligeable pour de nombreuses populations, possédant bien des vertus thérapeutiques démontrées par l'expérience.

Le continent africain est un des continents dotés d'une biodiversité la plus riche dans le monde. L'Algérie possède une richesse floristique considérable, ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique et plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles (ABERKANE, 2006).

Capparis spinosa L. est une plante de la famille des Capparidaceae (PANICO *et al.*, 2005). Largement distribué en Algérie dans les régions montagneuses et utilisé par les personnes de ces régions en médecine traditionnelle pour traiter les troubles digestives, le rhumatisme, la diarrhée, ... etc.

Le présent travail a été entrepris afin d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines de *Capparis spinosa* sur les entérobactéries causant la diarrhée.

C'est dans cette optique que notre étude a été scindée en trois parties :

- La première partie, est une synthèse bibliographique qui résume les principales caractéristiques de l'espèce de *Capparis spinosa* et les entérobactéries.
- La deuxième partie du travail est expérimentale, elle est consacrée à :
 - Préparation des extraits, étheropétrolique, chloroformique et méthanolique des écorces des racines de la plante *Capparis spinosa*.
 - Détection de la présence des métabolites dans les écorces des racines de la plante.
 - Isolement et identification des souches bactériennes de la famille des entérobactéries.
 - Evaluation de l'activité antibactérienne de nos extraits vis-à-vis a quatre souches par le test de diffusion sur milieu gélosé.
- Dans la troisième partie, nous discutons les résultats obtenus lors de cette étude et notre travail est achevé par une conclusion.

1. CAPPARIS SPINOSA

1.1. Généralités

Le genre *Capparis* de la famille Capparidaceae (BARRBERA, 1991 ; YU *et al.*, 2006) ou Capparaceae (TILILI *et al.*, 2010) est un arbuste vivace (POLAT, 2007) comprend plus de 250 espèces dans le monde entier (BARBERA, 1991). *Capparis spinosa* L. est l'espèce type de ce genre (TILILI *et al.*, 2010).

Capparis spinosa est une plante aromatique très répandue dans le Bassin Méditerranéen (TILILI *et al.*, 2010), elle est connue depuis des siècles dans la nourriture et en phytothérapie traditionnelle dans différents pays (MOGHADDASIAN *et al.*, 2012; SHER et ALYEMENI, 2010; SULTAN et CELIK, 2007).

1.2. Systématique

La classification botanique suivante se réfère au Système de Classification des Plantes Fleurissantes (CRONQUIST, 1981).

Tableau 01. Classification botanique de *Capparis spinosa* (CRONQUIST, 1981)

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Famille	Capparaceae
Genre	<i>Capparis</i>
Espèce	<i>Capparis spinosa</i>

1.3. Nomenclature

Capparis spinosa ou câprier, son nom commun, est connu avec différents noms vernaculaires : kronbeiza, felfet el djebel, acef, chalem en Algérie (BELOUED, 2009). "Al Kabbar" dans le nord d'Afrique (nom arabe) (SAADAOUI *et al.*, 2011), Alcaparro en

Espagne, Gollaroe en Turquie (SAADAoui *et al.*, 2011) et Caperbuch en Angleterre (SCHAUENBERG et PRIS, 2010).

1.4. Description botanique

C. spinosa est un arbuste qui mesure, à l'âge adulte, 50 à 80 cm en hauteur et 1 à 1,5 m en largeur. Il présente un tronc court avec plusieurs rameaux caractérisés par un aspect ascendant, une couleur verte à rougeâtre (KENNY, 1997).

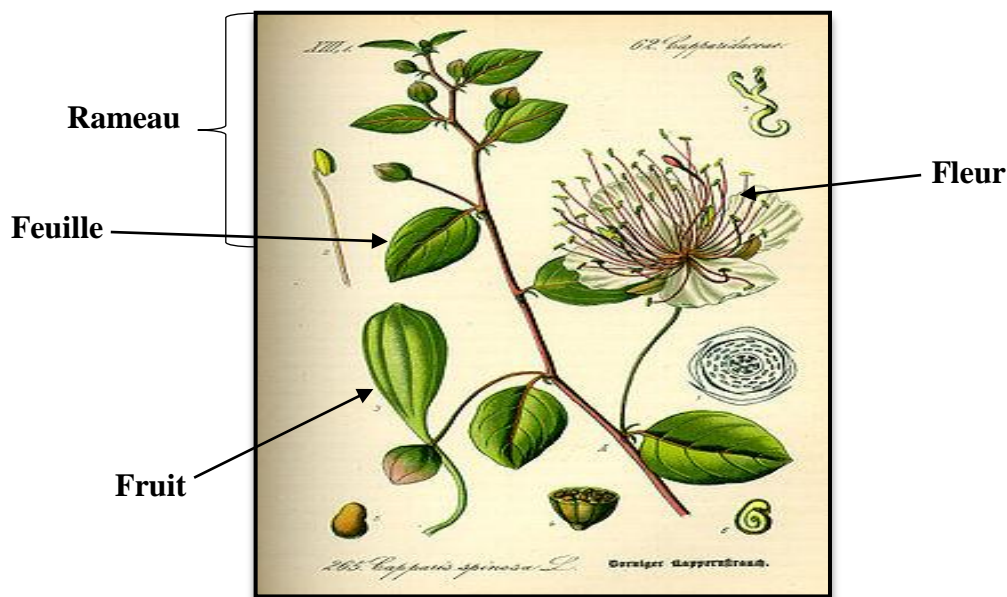


Figure 01. Aspects morphologiques de *Capparis spinosa* (THOMÉ, 1885)

1.4.1. Les feuilles

Les feuilles ont généralement des formes ovales à arrondies avec une grande variabilité entre individus portant sur la longueur du pétiole ainsi que sur la largeur et la forme du limbe (KENNY, 1997).

1.4.2. Les fleurs

Les fleurs sont complètes d'environ 50 mm de diamètre (POLAT, 2007), agréablement parfumées, voyantes, avec quatre pétales blancs à blanc rosés (MOGADDASIAN *et al.*, 2012), largement ovales arrondies au sommet (BELOUED, 2009), ont de nombreuses étamines (SCHAUENBERG et PRIS, 2010).

1.4.3. Les fruits

Le fruit, porté par un long gynophore, est une baie monoloculaire, de 2 à 4 cm de long, de forme ovoïde, d'abord verte et puis rougeâtre à maturité, déhiscente, et contenant de nombreuses graines (BARBERA, 1991).

1.4.4. Les racines

Le système racinaire moyennement ramifié, se caractérise par des racines charnues très développées et profondes (BARBERA, 1991).

1.5. Origine et distribution de la plante

Le câprier est l'une des plantes aromatiques les plus répandue dans les pays du bassin méditerranéen (KENNY, 1997). Elle est présente en Espagne, France, Italie, Yougoslavie, Grèce, Algérie, Egypte, Turquie, Irak, Tunisie et Maroc (BARBERA, 1991). Leur origine est, cependant, supposé dans les zones arides de l'Ouest ou en Asie centrale (AGHEL *et al.*, 2007).

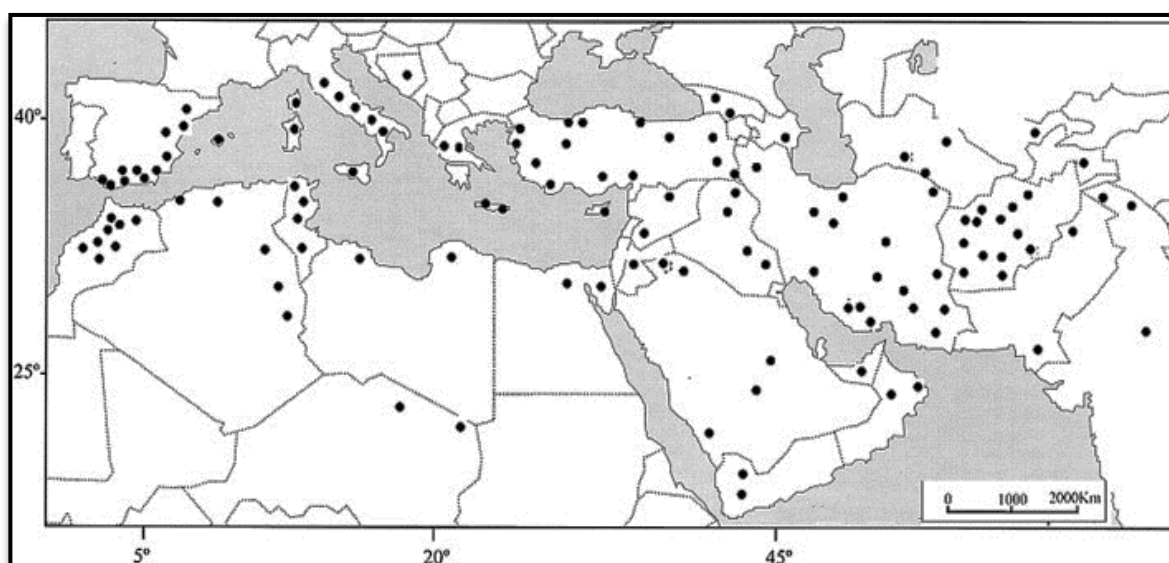


Figure 02. La distribution naturelle de câprier (TILILI *et al.*, 2010)

1.6. Habitat et environnement

Le câprier se développe dans les zones arides et semi-arides, sur des surfaces rocheuses et escarpées (AYTAC *et al.*, 2009). Il pousse spontanément dans les fissures et les crevasses de tours et des murs en pierre (ABU KHALAF et ARAFEH, 2010), les pentes rocailleuses et les argileuses (BELOEUD, 2009).

Les sols de soutien de *C. spinosa* sont généralement à texture sablo-limoneux avec une faible alcalinité, le pH se situant entre neutre légèrement basique (SAKCALI *et al.*, 2008).

1.7. La composition chimique de *Capparis spinosa*

Capparis spinosa contient une large gamme des composés phytochimiques (ABU KHALAF et ARAFEH, 2010).

1.7.1. Les métabolites primaires

Les grains du câprier contiennent des protéines, des lipides et des fibres (JIANG *et al.*, 2007). Les tests sur les extraits des racines de *C. spinosa* ont montré la présence de sucres : le glucose, l'arabinose, le mannose et le galactose (TILILI *et al.*, 2010), et aussi l'existence de petites quantités de lipides, l'acide gras principal est l'acide linoléique suivie de l'acide oléique (TILILI *et al.*, 2010).

1.7.2. Les métabolites secondaires

1.7.2.1. Les acides phénoliques

Le câprier est riche en acides hydroxy-cinnamiques y compris l'acide caféique, l'acide férulique, acide p-coumarique et l'acide cinnamique (SATYNARAYANA *et al.*, 2008).

1.7.2.2. Les flavonoïdes

Les bourgeons floraux du câprier renferment les flavonoïdes suivants : la quercétine surtout quercétine-3-rutinosides et quercétine-7-O-glucorhamnoside, la rutine, le kaempférole principalement kaempférole-3-rutinosides et kaempférole-3-O-rhamnosyl-rutinoside (INOCENCIO *et al.*, 2000).

La partie aérienne de la plante contient aussi la quercétine-3-O-glucoside, la quercétine-3-O-glucoside-7-O-rhamnoside, la quercétine-3-O-[6''- α -L-rhamnosyl-6''- β -D-glucosyl]- β -D-glucoside et la quercétine-7-O-D-glucopyranoside- β -L-rhamnopyranoside (SATYANARAYANA *et al.*, 2008).

1.7.2.3. Les glucosinolates

Les glucosinolates comme la sinigrine, la glucoiberine et la glucocleomine ont été également isolées à partir des graines et des feuilles de câprier (SATYANARAYANA *et al.*, 2008). En outre, les mêmes auteurs ont rapporté que les indoles glucosinates comme le

glucobrassicine, le neoglucobrassicine et le 4-methoxyglucobrassicine sont présents dans les racines de la plante.

1.7.2.4. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont aussi présents dans le câprier, ils sont distribués principalement dans les racines et les graines (PANICO *et al.*, 2005). La teneur élevée en alcaloïdes a été trouvée dans les racines de la plante où la stachydrine représente 87,43 % des alcaloïdes totaux, trois autres alcaloïdes spermidines (la capparispine, la capparispine 26-O- β -D-glucoside et la cadabicine 26-O- β -D-glucoside hydrochloride) ont été identifiés dans les racines de la plante (FU *et al.*, 2008).

1.7.2.5. Les composés volatils

MOUGADASSIAN *et al.* (2012) ont montré que l'huile de feuilles est composé de n-alcanes, phényle, le thymol (24,4%), isopropylique isothiocyanates (11%), 2-hexenal (13,2%), l'isothiocyanate de butyle (6,3%), la chlorophylle, la proline (acide aminé) et teneurs en amidon ont été rapportés. Les composés volatils des fruits mûrs et des racines de la plante sont caractérisés principalement par la présence de méthyle isothiocyanate, l'isopropyle isothiocyanate et le butyle isothiocyanate (TILILI *et al.*, 2010 ; SATYANARAYANA *et al.*, 2008).

En plus *C. spinosa* est riche en composés minéraux (DUMAN et OZCAN, 2013) essentiellement les micronutriments tels que Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, et Mn qui sont des éléments nutritifs essentiels à la croissance du corps humain (DUMAN et OZCAN, 2007).

1.8. Utilisation

Comme de nombreuses plantes des zones arides et semi-arides, le câprier est une espèce qui peut être utilisée à différentes fins (BARBERA, 1991).

1.8.1. Usage en médecine traditionnelle

En tant que plante médicinale, *C. spinosa* est une source significative de traitement d'un certain nombre de maladies (POLAT, 2007) comme le rhumatisme (FU *et al.*, 2008), l'anémie et la goutte (SHER et ALYEMENI, 2010). Il est utilisé également pour traiter les maux de dos, la surdité et l'infertilité féminine (ABU KHALAF et ARAFEH, 2010), comme diurétique, désinfectant (AGHEL *et al.*, 2007), vermifuges et toniques (MOUGADASSIAN *et al.*, 2012).

Tableau 02. Quelques utilisations traditionnelles des différentes parties de *C. spinosa*

Indication	Partie utilisée	Mode d'utilisation	Référence
Les infections gastro-intestinales, la diarrhée et la dysenterie, l'eczéma	bourgeons floraux	la décoction	SHER et ALYEMENI, 2010
augmenter l'érection et apaiser les douleurs	Les fleurs	Extérieurement	TILILI <i>et al.</i> , 2010
Les infections gastro-intestinales, la diarrhée, améliorer la vue	Les feuilles	la décoction, extérieurement	SHER et ALYEMENI, 2010
Les convulsions	Les fruits	Oralement avec les aliments	TILILI <i>et al.</i> , 2010
Les problèmes de gencives, accélérer la menstruation	Les graines	Extérieurement et oralement	TILILI <i>et al.</i> , 2010
L'arthrite, des effets analgésiques, antiphlogistiques	La tige	la décoction	Y U <i>et al.</i> , 2006

1.8.2. Utilisation de l'écorce des racines en médecine traditionnelle

Les écorces des racines ont été traditionnellement utilisées à des fins pharmacologiques, notamment contre les rhumatismes (SHARAF *et al.*, 2000). Ils agissent comme un détergent et astringent, et constituent également un remède pour la rate, les reins et le foie. Les racines (SACKALI *et al.*, 2008), est un analgésique, vermifuge, désobturant, diurétique, expectorant et vaso-constructive (MISHRA *et al.*, 2009). Ils sont également utilisés dans le traitement des problèmes gastriques, de diarrhée (MISHRA *et al.*, 2009), des maladies de la peau (KOTHE, 2007), le traitement de la toux, de l'asthme et l'inflammation (TILILI *et al.*, 2010), l'anémie, l'arthrite et la goutte (AGHEL *et al.*, 2007), et compresses tonifiantes pour les yeux (SCHAUENBERG et PRIS, 2010).

Tableau 03. Les écorces des racines et leur forme d'utilisation.

La forme	Indication	Mode d'utilisation	Référence
La poudre	l'hydropisie, les cachexies, l'atonie générale, avec dépression nerveuse, la cuite, les ulcères	Voie orale	BELOUED, 2009
Les pâtes	les articulations gonflées, des éruptions cutanées et la peau sèche	Voie externe	SHER et ALYEMENI, 2010

1.8.3. Autre usage de la plante

C. spinosa est l'une des plantes aromatiques les plus communément trouvées dans la cuisine méditerranéenne (REMEO *et al.*, 2005). Les boutons floraux ont été utilisés comme assaisonnement (FENG *et al.*, 2011) dans des recettes de salades, pâtes, viandes, sauces et garnitures, pour ajouter une saveur et un arôme épicé piquant à la nourriture et ont acquis une importance considérable dans l'industrie alimentaire (REMEO *et al.*, 2005). Les jeunes fruits et les extrémités des branches tendres, riches en protéines, lipides, glucides, vitamines et minéraux (MOGADDASSIAN *et al.*, 2012), sont confits dans le vinaigre, et utilisés comme condiment (SHER et ALYEMENI, 2010).

Les fruits, riche en d'huile et de vitamine E, peuvent être utilisés comme une nouvelle source d'huiles comestibles (YANG *et al.*, 2010).

Certaines parties de *Capparis spinosa* sont utilisées dans les produits cosmétiques modernes (SHARAF *et al.*, 2000), pour la production des médicaments, des insecticides et aliments pour les animaux (POLAT, 2007).

Capparis spinosa est également utilisé comme plante ornementale, il peut également être utilisé pour la protection du sol (BARBERA, 1991).

1.9. Activité biologique

Différentes parties de cette plante présentent une activité biologique (KWAN LAM et BUN NG, 2009). Par ailleurs, des études en laboratoire ont montré que les extraits de la plante ont des effets pharmacologiques (YANG *et al.*, 2010).

1.9.1. Activité inflammatoire

SATYANARAYANA *et al.* (2008) ont montré que le câprier possède un effet anti-inflammatoire, du fait que, le capparénole-13 isolé à partir du câprier a inhibé considérablement l'œdème de l'oreille des rats induit par la carragénane.

1.9.2. Activité protectrice

PANICO *et al.* (2005) ont montré que l'extrait méthanolique des bourgeons floraux du câprier présente un effet protecteur sur les chondrocytes via leur activité inhibitrice sur la production des prostaglandines, le monoxyde d'azote et des espèces réactives de l'oxygène qui provoquent la biodégradation du cartilage.

1.9.3. Activité anti-hépatotoxique

Des études antérieures sur *C. spinosa* ont montré que les extraits aqueux des parties aériennes de la plante avaient significatif activité anti-hépatotoxique contre l'hépatotoxicité induite in vivo par tetrachloride de carbone et par le paracétamol (GADGOLI et MISHRA, 1999).

1.9.4. Activité antimicrobienne

Les extraits de câprier sont des sources potentielles de composés antimicrobiens en particulier contre les bactéries pathogènes et de nouvelles recherches suggèrent une utilisation possible de *C. spinosa* comme source d'antioxydants naturels et agents antimicrobiens (MOGADDASSIAN *et al.*, 2012). Ces extraits ont également des activités antivirales (KWAN LAM et BUN NG, 2009), anti-Leishmania (KWAN LAM et BUN NG, 2009) et antifongique très forte (POLAT, 2007).

1.9.5. Autre activités

Comme anti-hyperglycémiant (YANG *et al.*, 2010), antiallergique (PANICO *et al.*, 2005), antidiabétique et anti-obésité (SHER et ALYEMENI, 2010), antihistaminique (KWAN LAM et BUN NG, 2009), ainsi que l'effet inhibiteur sur la prolifération des fibroblastes et la production de collagène de type 1 dans la sclérose systémique progressive (CAO *et al.*, 2008).

2. LES ENTÉROBACTÉRIES

2.1. Définition

Le nom entérobactéries ou bactéries entériques (du grec **enterikos**, appartenant à l'intestin (PRESCOT *et al.*, 2003 ; SHERWOOD *et al.*, 2010), a été proposée par Rhan en 1937 (JOLY et REYNAUD, 2002).

Les entérobactéries constituent une famille bactérienne hétérogène regroupe un grand nombre d'espèces commensales de l'intestin et d'importants pathogènes (CARIP, 2008 ; HART et SHERS., 1997), qui sont définies par un ensemble de caractères généraux communs :

- Sont des bacilles à Gram négatif, mobiles (sauf *Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis* sont immobiles) et asporogènes (FRENEY *et al.*, 2007 ; NAUCIELET VILDE, 2005 ; SPICER, 2000).
- Elles sont aérobies anaérobies facultatives (CARIP, 2008 ; JOLY et REYNAUD, 2002), poussent facilement sur les milieux ordinaires (CATTOIR, 2005).
- Elles utilisent le D-glucose et les autres sucres par fermentation plutôt que par oxydation souvent avec production de gaz sauf *Shigella*, *Yersinia pestis* et *Salmonella typhi* (FRENEY *et al.*, 2007 ; SPICER, 2000).
- Elles sont oxydase négative, catalase positive (DELARRAS, 2007 ; JOLY et REYNAUD, 2002).
- Elles réduisent les nitrates en nitrites à l'exception de certaines souches d'*Erwinia* et de rares mutants (FRENEY *et al.*, 2007).

2.2. Classification

La classification des genres, espèces, sous espèces, bio-groupes et stéréotypes d'entérobactéries a été long temps basée uniquement sur des caractéristiques biochimiques et antigéniques (FRENEY *et al.*, 2007).

Domain: Eubacteria.

Phylum XII: Proteobacteria.

Classe : Gammaproteobacteria.

Ordre : Enterobacteriales.

Famille : Enterobacteriaceae.

44 genres (DELARRAS, 2007) : Les genres de cette famille sont regroupés en **4 tribus** (NDIAYE et LOUM, 2005).

Tableau 04. Classification des espèces d'Entérobactéries les plus intéressants en

Tribus	Genre	Espèce
Escherichia	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Shigella</i>	<i>Shigelladysenteriae, Shigella flexneri, Shigella boydi, Shigella sonnei.</i>
	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella Styphi, Salmonella paratyphi.</i>
	<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter freudii, Citrobacter diversus, Citrobacteramalonaticus.</i>
Klebsiellae	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Klebsiella ozenae, Klebsiella rhinoscleromatis.</i>
	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter cloacea, Enterobacter aerogenes, Enterobacter hafniae, Enterobacter agglomerans. Enterobacter sakazakii, Enterobacter gergoviae.</i>
	<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens, Serratia liquefaciens, Serratia rubidea, Serratia plymuthica, Serratia odorifera.</i>
Proteae	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Proteus alcalifaciens.</i>
	<i>Morganella</i>	<i>Morganella morganii.</i>
	<i>Providonica</i>	<i>Providonica stuartii, Providenica rettgri.</i>
Yersinia	<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia pestis, Yersinia pesti, Yersinia pseudotuberculosis.</i>

2.3. Habitat et mode de vie

La famille des entérobactéries regroupe de nombreuses espèces qui sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux où ils sont retrouvés soit à l'état de colonisateurs normaux de ce tube digestif soit à l'état de pathogènes (AVRIL *et al.*, 2000). Mais ce caractère écologique n'est pas exclusif. Les entérobactéries sont des bactéries ubiquitaires se trouve dans les eaux douces, sols, végétaux, animaux (insectes jusqu'à l'homme) et peuvent contaminer des denrées alimentaires (HABI, 2009).

2.4. Morphologie et structure de surface

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique de type bacilles à Gram négatif de 2 à 3 μm de long sur 0,6 μm de large, généralement polymorphes (BAKHOUM, 2004).

2.4.1. La paroi

La paroi est une coque rigide (FIGARELLA *et al.*, 2007) plus complexe, elle est composée de deux éléments : le peptidoglycane et une membrane externe (BOUSSEBOUA, 2002). En surface une « membrane externe » est formée d'une double couche de phospholipide et de polysaccharide sont reliées par des lipoprotéines, la membrane externe contient également : des protéines de structure et protéines de transport transmembranaire porines (CARIP, 2008). Le peptidoglycane est présent généralement en une seule couche de 1 à 5 nm d'épaisseur (BOUSSEBOUA, 2002).

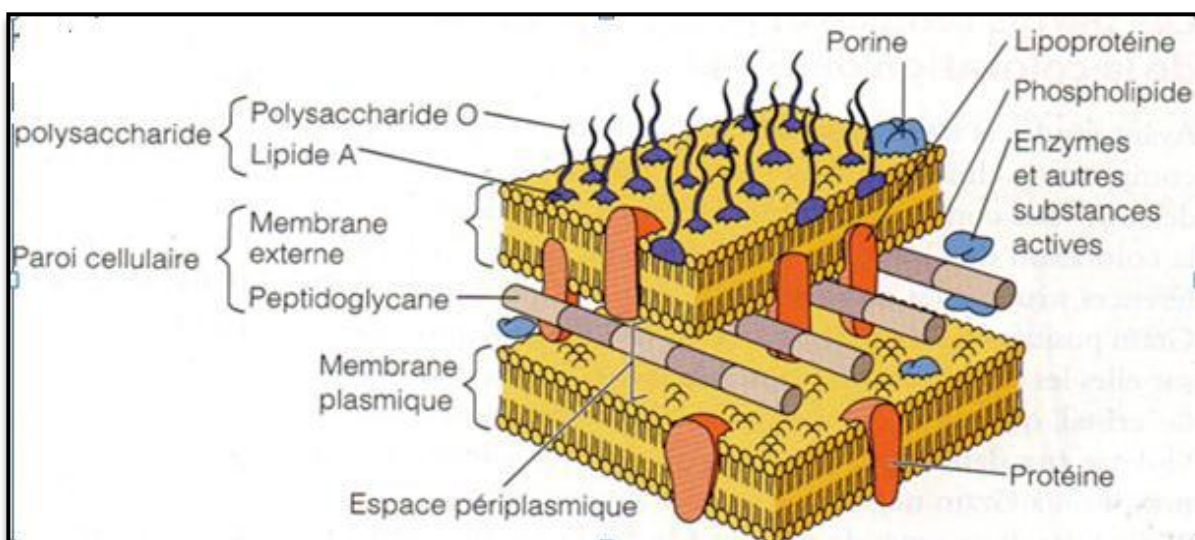


Figure 03. La structure de la paroi Gram négatif (TORTORA *et al.*, 2003)

Toutes les entérobactéries possèdent des antigènes de paroi (somatiques) ou antigènes O qui correspondent aux polyosides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS) et qui constituent les endotoxines des bactéries à Gram négatif. Les espèces mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelles ou antigènes H de nature protéique, constitués de flagellines. Certaines souches possèdent en plus un antigène K qui masque l'antigène O, et qui correspond à une enveloppe polyosidique constituant une véritable capsule et donnant un aspect muqueux (MEZIANI, 2012).

2.4.2. Les flagelles

Ce sont des filaments fins, long de 10 à 20 μm , plusieurs fois la taille de la bactérie, flexibles et sinueux (FIGARELLA *et al.*, 2007). Ils sont constitués de protéines (flagelline), ils assurent la mobilité de la bactérie en permettant aux bactéries de se déplacer dans un milieu liquide (CHADIN *et al.*, 2006).

2.4.3. Les pili (Fimbriae)

Ce sont des structures externes, de nature protéique (BOUSSEBOUA, 2002), plus courts, plus droits et plus minces que les flagelles (TORTORA, 2001), sont impliqués dans l'adhésion des bactéries pathogènes à leur hôte, et de manière générale dans l'adhésion entre les bactéries et leur environnement (MICHEL, 2012).

2.5. Caractères culturels

Les entérobactéries sont des germes aéro-anaérobies facultatifs poussent facilement sur les milieux ordinaires en 18 heures. La température optimale de croissance est 37°C mais la culture est possible entre 20° et 40°C. Ce sont des germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5,5 - 8) et ils sont assez tolérants aux variations de la pression osmotique (PILET *et al.*, 1979). Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose. Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement rondes, lisses, brillantes à contour régulier et leur diamètre est de 2 à 3 mm après 18 heures d'incubation à 35 - 37 °C. En milieu liquide, les entérobactéries occasionnent un trouble uniforme (CARBONNELLE *et al.*, 1987).

2.6. Caractères biochimiques

L'identification des espèces de la famille d'Enterobacteriaceae fait par l'étude des caractères biochimiques (AVRIL *et al.*, 2000) (Tableau 05).

Tableau 05. Réaction biochimiques utilisées pour l'identification des entérobactéries (SPICER, 2000)

Test	Résultat positif	Exceptions
Production d'acide à partir du glucose	Tous	
Production du gaz à partir du glucose	La plupart	Shigelles, <i>Yersinia pestis</i> , <i>Salmonella typhi</i>
Fermentation du glucose	Seulement <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> .	Salmonelles, shigelles, <i>Yersinia pestis</i>
Catalase positive	Tous	
Réductions des nitrates	Tous	
Oxydase négative	Tous	
Production d'H ₂ S	Seulement salmonelles, <i>Proteus</i> et <i>Yersinia pestis</i>	Bactéries du groupe KES, toujours négatives
Uréase	<i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Yersinia</i> sp., fortement positive	Bactéries du groupe KES, toujours négatives
Production d'indole	<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> sp., fortement positifs	<i>Proteus mirabilis</i> , salmonelles, proupe KES
Utilisation des citrates	La plupart	<i>Escherichia coli</i> , shigelles, <i>Morganella</i> , <i>Yersinia</i>
Liquéfaction de la gélatine	La plupart	Salmonelles, shigelles,
VP	Groupe KES	La plupart négative

Groupe **KES** : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia* sp.

3. GÉNÉRALITÉS SUR LA DIARRHÉE

3.1. Définition

Une diarrhée se définit comme étant une émission excessive et fréquente de matières fécales liquides ou molles (ROBIN, 2011).

En pratique, on utilise des critères de fréquence et de consistance des selles ; La diarrhée est ainsi définie par l'émission de plus de trois selles liquides par jour (CHAIGEAU, 2007), est dite aiguë lorsqu'elle évolue depuis moins de deux semaines (BEAUGERIE et SOKOL, 2012).

3.2. Les cause de diarrhée

Les diarrhées dépendent de plusieurs facteurs, notamment de facteurs infectieux (parasitaires, viraux ou bactériens) (ROBIN, 2011).

Les plus fréquemment impliqués sont les rotavirus, les calicivirus, les astrovirus, et les adénovirus entériques. Les autres causes de diarrhée peuvent être des bactéries (*Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*), des parasites, des médicaments ou liées à des infections extra digestives (VERRET GALCERAN, 2012).

3.3. Les types de la diarrhée

On distingue schématiquement deux grands types de mécanismes physiopathologiques de la diarrhée dont l'identification permet souvent d'orienter le diagnostic étiologique :

3.3.1. La diarrhée dite « toxinique » (tableau cholériforme), de causes virale (rotavirus), bactérienne (*Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* entero-toxinogène, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) et parasitaire (*Cryptosporidium*). Elle se caractérise par une diarrhée hydrique, abondante, d'installation rapide, sans douleurs abdominales, mais avec des vomissements (FOHOM TAYOU, 2010).

3.3.2. La diarrhée dite « invasive » (tableau dysentérioriforme), de cause bactérienne : *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Escherichia coli* entéro-invasifs (EIEC), *Clostridium difficile* ; plus rarement parasitaire : *Entamoeba histolytica*. La diarrhée invasive se caractérise par une diarrhée glaireuse ou purulente et / ou sanglante, accompagnée de douleurs abdominales à type d'épreintes, de ténésme, de faux besoins : c'est la dysenterie qui

représente moins de 10% des diarrhées aiguës infectieuses (AUBRY, 2013 ; EL OMARI, 2007).

3.4. Le mode de Transmission des facteurs pathogènes

L'environnement humain a longtemps été considéré comme un facteur pouvant avoir un impact sur l'apparition des maladies diarrhéiques (RANDREMANANA, 2006). La contamination du tube digestif (et donc l'inoculum initial) est, soit directe donc féco-orale (par manuportage) à partir de selles (animales ou humaines selon les germes en cause) qui constituent le réservoir habituel de germes pathogènes, soit indirecte par l'ingestion de denrées alimentaires et/ou d'eau contenant des micro-organismes (ou leur toxine) (CARRE, 2004).

3.5. Mécanisme de la diarrhée

D'après BOUSKRAOUI *et al.* (1998), Les bactéries peuvent provoquer une diarrhée par deux agents principaux (Figure 4) :

3.5.1. Les agents toxinogènes

Agissant par l'intermédiaire d'une exotoxine qu'ils libèrent après la traversée de la barrière de l'acidité gastrique et la colonisation de la partie terminale du grêle.

3.5.2. Les agents invasifs

Qui détruisent la muqueuse colique et pénètrent à l'intérieur des entérocytes, avec comme conséquence la constitution d'ulcérations et de micro-abcès.

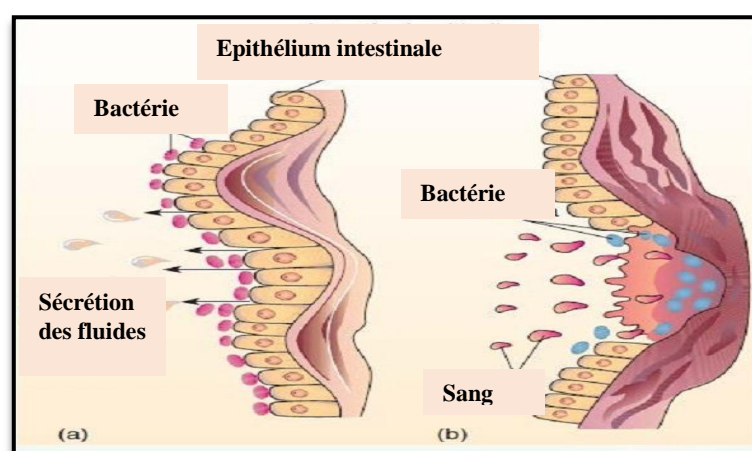


Figure 04. Mécanismes de diarrhée d'origines infectieuses bactériennes : **(a)** dans une infection toxinogène, **(b)** dans une infection invasive (NAPOCA, 2012)

4. MATÉRIEL ET MÉTHODES

4.1. Récolte

La plante *Capparis spinosa*, a été récolte au mois d'octobre 2013, dans son habitat naturel de la région ouest d'Ain Zaatout a Biskra : (Le village est situé à 35,14° Nord et 5,83° Est entre les wilayas de Biskra et Batna au sud du massif montagneux des Aurès).



Figure 05. Photo originale de *Capparis spinosa* L.

4.2. Séchage

Les racines fraîchement récoltées, elles ont été lavées et laissées sécher à l'ombre (à l'abri de la lumière du soleil), dans un endroit sec et aéré, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules.


A photograph of several dried, light brown roots of Capparis spinosa. The roots are thick and gnarled. A dashed line on the left side of the image is labeled "Les Racines". An arrow on the right side points to a section of the root, labeled "Écorce de racine".

Figure 06. Matériel végétal

16

4.3. Extraction

La préparation des extraits se fait à partir du matériel végétal broyé, et par macération.

4.3.1. Broyage

Après le séchage, et la séparation de l'écorce des racines à partir des racines elle-même, le matériel végétal a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique de type IKA A11-Basic.

4.3.2. Principe de macération

D'après MEDDOUR *et al.* (2013). La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

4.3.3. Préparation des extraits organiques

La méthode d'extraction que nous employons est la macération successive par trois solvants à polarité croissante (l'éther de pétrole, le chloroforme et le méthanol) selon DIALLO *et al.* (2004).

4.3.3.1. Principe

L'extraction par l'éther de pétrole a pour but d'entraîner les graisses ainsi que les composés apolaires. La deuxième extraction par le chloroforme a été faite pour obtenir un extrait riche en composés moyennement polaires. La dernière extraction a été faite avec le méthanol qui extrait les composés polaires.

4.3.3.2. Mode opératoire

Quarante g de poudre ont été extraits avec 240 ml d'éther de pétrole et placés sous agitation mécanique pendant 24 heures. Après filtration sur papier filtre, le résidu de l'extraction précédente a été repris par 240 ml de chloroforme et laissé sous agitation pendant 24 heures, le résidu est à nouveau extrait par 240 ml de méthanol pendant 24 heures dans les mêmes conditions. Après filtration et à la fin de l'extraction, les extraits organiques (Ep, Chl, MeOH) ont été concentrés sous vide au rotavapeur aux températures 37 C°, 40 C° et 50 C° respectivement. Après la concentration, ces extraits ont été laissés sécher à l'air libre

4.3.4. La conservation des extraits bruts

Les extraits bruts conservés à une température ambiante, dans des flacons en verre brun fermés hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière.

Le protocole d'extraction est résumé dans la figure (09).

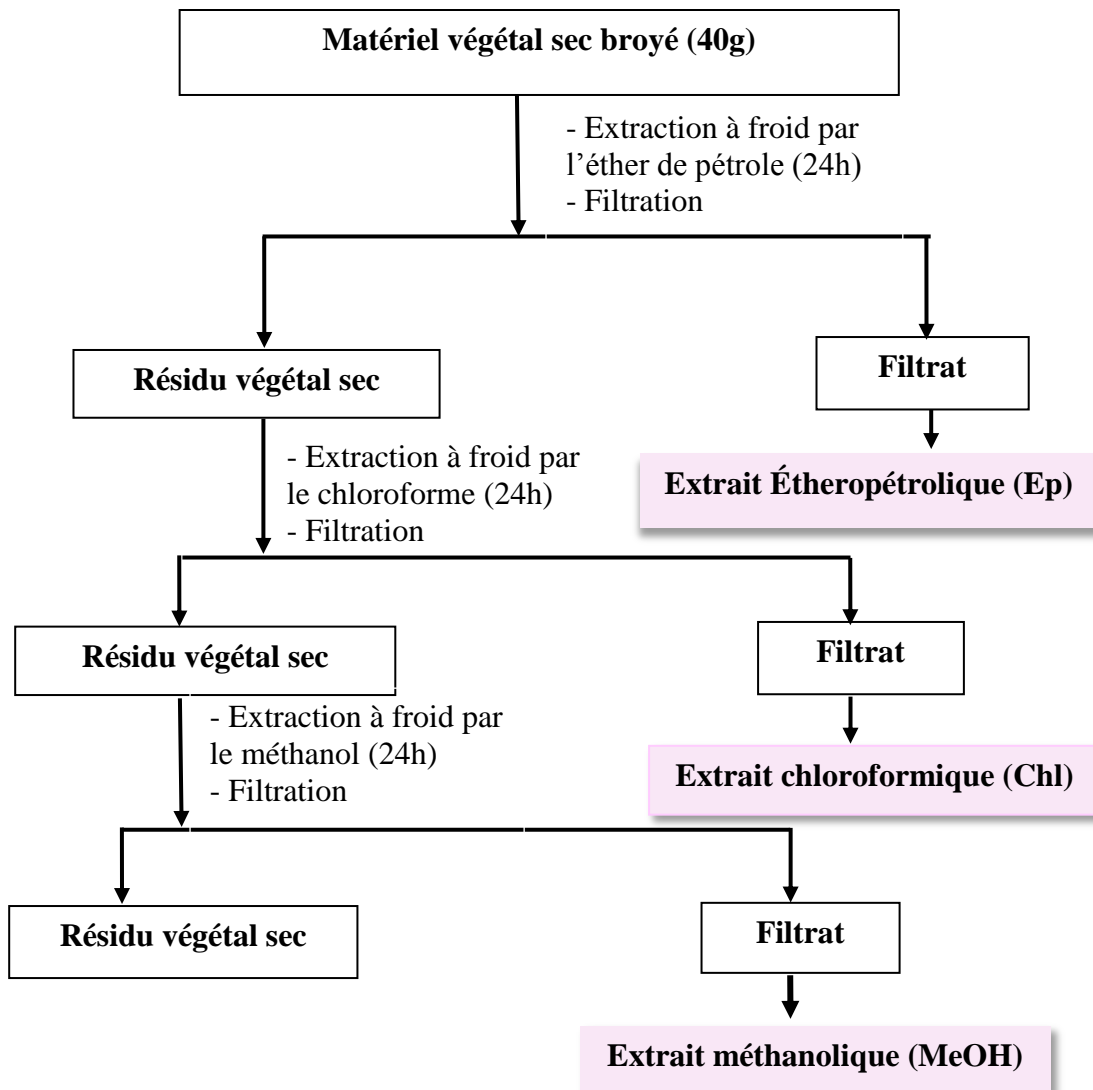


Figure 07. Extraction par polarité croissante de la poudre des écorces des racines de *Capparis spinosa* L.

4.4. Les tests phytochimiques

Les examens phytochimiques qui consiste à détecter les différents composés chimiques existant dans la plante. Selon la méthode standard de TIWARI *et al.* (2011) sauf le test des tanins selon la méthode de DOHOU *et al.* (2003).

Les trois extraits (extrait étheropétrolique, chloroformique, méthanolique) ont été utilisés, au cours de ces tests qui sont basés sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation.

4.4.1. Détection des alcaloïdes

Deux ml de chaque extrait ont été dissous individuellement en acide chlorhydrique dilué et filtrée. Les filtrats étaient avec quelque goutte du réactif de Dragendorff (solution d'iode de bismuth de potassium).

Un test positif est révélé par la formation du précipité rouge indique la présence des alcaloïdes.

4.4.2. Détection des hydrates de carbone

Deux ml de chaque extrait ont été dissous individuellement en 5 ml d'eau distillée puis filtrés. Les filtrats ont été employés pour déterminer la présence des hydrates de carbone par la réaction de Molish ; les filtrats ont été traités avec 2 gouttes de solution alcoolique de α -naphtol (2 %) dans un tube à essai. La formation d'un anneau violet indique la présence des hydrates de carbone.

4.4.3. Détection des glycosides

Deux ml de chaque extrait ont été hydrolysés avec HCL dilué, et alors soumis à l'essai pour des glycosides. Les extraits ont été traités avec la solution de chlorure ferrique et immergés dans l'eau bouillante pendant environ 5 minutes. Le mélange a été traité avec la solution d'ammoniaque. La formation de couleur rose dans la couche d'ammoniaque indique la présence des glycosides d'anthranol.

4.4.4. Détection des saponines

Les saponines sont caractérisées par un indice de mousse. Leur détection est réalisée en ajoutant 2 ml de l'eau à 0,5 ml de chaque extrait, après l'agitation, si la mousse produite persiste pendant dix minutes elle indique la présence des saponines.

4.4.5. Détection des phytostérols

Deux ml de chaque extrait ont été traités avec du chloroforme et filtrés. Les filtrats ont été traités avec des gouttes d'anhydride acétique, bouillis et refroidis, L'acide sulfurique concentré a été ajouté.

La formation d'anneau de front à la jonction indique la présence des phytostérols.

4.4.6. Détection des triterpènes

Deux ml de chaque extrait ont été traités avec du chloroforme et ont filtré. Des filtrats ont été traités avec peu de gouttes d'acide sulfurique concentré. L'apparence de couleur jaune d'or indique la présence des triterpènes.

4.4.7. Détection des phénols

Deux ml de chaque extrait ont été traités avec 3 à 4 gouttes de solution de chlorure ferrique. La formation de couleur noire bleuâtre indique la présence des phénols.

4.4.8. Détection des tannins

L'ajout de trichlorure du fer (10 %) permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noire en présence des tanins galliques et au brun verdâtre en présence des tanins (DOHOU *et al.*, 2003).

4.4.9. Détection des flavonoïdes

Deux ml de chaque extrait ont été traités avec des gouttes de solution d'hydroxyde de sodium. La formation de couleur jaune intense qui devient transparente lors d'addition de l'acide dilué, indique la présence des flavonoïdes.

4.4.10. Détection des diterpènes

Deux ml de chaque extrait ont été dissous dans l'eau et traité avec 3 à 4 gouttes de la solution d'acétate de cuivre, la formation de couleur verte indique la présence des diterpènes.

4.4.11. Détection des protéines

Deux ml de chaque extrait ont été traités avec des gouttes d'acide nitrique. La formation de couleur jaune indique la présence des protéines.

4.5. Isolement et identification des entérobactéries

La méthode utilisée pour réaliser ce travail est celle adoptée au niveau de laboratoire central de microbiologie à l'hôpital El Hakim Saâdan à Biskra au mois de janvier 2014.

4.5.1. Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués à partir des selles provenant des malades hospitalisés inférieurs à 5 ans affectés par la diarrhée aiguë au niveau de l'hôpital El Hakim Saâdan Biskra. Les échantillons des selles ont été soigneusement prélevés dans des conditions d'asepsie.

4.5.2. Traitement des prélèvements

4.5.2.1. Préparation d'une suspension homogène à partir des selles

Une parcelle de selles est placée dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique et homogénéisée à l'aide d'un vortex. Pour les prélèvements par écouvillonnage rectal, on ajoute 1 ml d'eau physiologique et on agite.

La suspension préparée a été mise aux différentes analyses.

4.5.2.2. Examen direct

L'examen microscopique direct des selles est important, d'une part pour apprécier la flore, d'autre part pour orienter le diagnostic en cas de diarrhée à germes invasifs où il y a présence de leucocytes (*Salmonella sp*, *Shigella sp*).

a. Mode opératoire

A l'aide de microscope optique, il y'a tout d'abord :

- Observation microscopique à l'état frais (objectifs à immersion $\times 100$ et $\times 400$) ce qui permet de déterminer la morphologie général, la mobilité, le type du groupement (coque ou bacille)
- Observation microscopique avec coloration de Gram.

b. Lecture

- Les entérobactéries se présentent sous forme de bacilles mobiles ou immobiles (germes péritriches).

4.5.2.3. Analyse bactériologie**a. Phase d'enrichissement**

Une demi-pipette Pasteur de chaque suspension de selles a été introduite dans le bouillon sélénite puis incubé à 37°C pendant 24 heures. Ce milieu a été utilisé pour l'enrichissement des souches conservées.

b. Phase d'isolement

Après l'observation au microscope des différents types bactériens, on cherche les isoler, pour les identifier, pour cela la technique d'isolement par strie sur gélose coulée dans des boîtes de Pétri est utilisée (BINGEN *et al.*, 2007).

L'isolement direct des entérobactéries est pratiqué sur le milieu Hektoen qui est recommandé car il est mieux adapté à la culture des *Salmonella et Escherichia coli*, le milieu de SS pour les *Shigella* (AVRIL, 1995), et la gélose nutritive pour *Klebsiella* (BINGEN *et al.*, 2007).

c. Mode opératoire

A l'aide d'une anse de platine introduite dans chaque suspension, on ensemence par strie une boîte contenant gélose utilisé de façon à obtenir un grand nombre de colonies isolées, puis on incube les boîtes à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

4.5.3. Identification des souches isolées

L'identification des souches a été faite à l'aide d'une série de tests biochimiques et un antibiogramme, les tests biochimiques ayant servi à l'identification sont :

- Coloration de Gram.
- Production de l'oxydase.
- Production de catalase.
- La Galerie biochimique API 20 E.

4.5.3.1. Colorations doubles ou différentielle**a. Principe général de la coloration de Gram**

La coloration de Gram est la coloration de base de bactériologie ; elle consiste à mettre en évidence les caractères morphologiques propres à une bactérie. Elle permet ainsi de distinguer les bactéries à Gram négatif des bactéries à Gram positif (DELLARAS, 2007).

b. Mode opératoire

La coloration de Gram peut être obtenue suivant divers protocoles et comprenant les mêmes étapes : fixation, coloration, décoloration et contre-coloration.

Un des protocoles les plus utiles se déroule selon les étapes suivantes :

- Préparer frottis d'un produit pathologique ou d'une culture bactérienne pure, par étalement et fixation par la chaleur de la suspension bactérienne sur une lame porte objet.
- Coloration pendant une minute au violet de gentiane (ou cristal violet pendant 30 s).
- Lavage à l'eau.
- Coloration au lugol pendant une minute.
- Lavage à l'eau.
- Décoloration par l'éthanol à 95°C jusqu'à l'élimination du colorant (environ 30s)
- Lavage par l'eau distillée.
- Contre coloration pendant 1 à 2 minutes par une solution de fuchsine diluée 10% ou par une solution de safranine.
- Lavage par l'eau distillée.
- Sécher au-dessus de flamme d'un bec Bunsen.

Observer au microscope par l'objectif à immersion X100.

c. Lecture

Avec cette coloration on voit des bacilles ou diplobacilles à Gram négatif. (L'entérobactérie) colorée en rose (DELLARAS, 2007).

4.5.3.2. Examen biochimiques**4.5.3.2.1. Test de catalase (peroxydase)**

La catalase est une enzyme joue un rôle dans l'élimination du peroxyde d'hydrogène par la décomposition en eau et oxygène.

a. Mode opératoire

On prend une lame propre et avec une pipette pasteur stérile, on dépose sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée et étaler un peu de la colonie des souches étudiées suspectes.

b. Lecture

La réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz.

4.5.3.2.2. Test d'oxydase

L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes (DELLARRAS, 2007).

a. Mode opératoire

A partir d'un milieu solide aérobie, prélever une quantité suffisante de culture et la déposer sur un disque ou un papier filtre imprégnés du réactif placé sur une lame à l'aide d'un instrument n'oxyde pas le réactif (pipette pasteur) (JOFFIN et LEYRAL, 2001).

b. Lecture

Une coloration violette apparaît immédiatement sur le disque indique que le test oxydase positive.

4.5.3.2.3. Galerie Api 20 E

Galerie Api 20 E est un système pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatifs non fastidieux, utilisant 23 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier dans ce système est présente dans le tableau d'identification.

a. Principe

Galerie Api 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats sous formes déshydratée (Figure 10), Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui constitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages après spontanés ou révélées par l'addition de réactifs (BIOMÉRIEUX, 2006).



Figure 08. Galerie Api 20 E avant l'utilisation (témoin)

a. Mode opératoire

➤ **Préparation de la galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Déposer la galerie dans la boîte d'incubation.

➤ **Préparation de l'inoculum**

- Ouvrir une ampoule de suspension medium (ou l'eau distillés stérile, sans additif).
- Prélever à l'aide d'une pipette, une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

➤ **Inoculation de la galerie**

- Remplir les cupules des tests : CIT, VP, GEL, avec la suspension bactérienne à l'aide de pipette ayant servi au prélèvement.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35 – 37°C pendant 18 - 24 heures.

➤ **Lecture de la galerie**

- La lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture.
- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées.

- Si le glucose est positif et si 3 tests ou plus sont positifs : révéler les tests nécessitant l'addition des réactifs :

- **Test VP** : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2, attendre au minimum 10 minutes.

Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.

- **Test TDA** : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncé indique une réaction positive.

- **Test IND** : ajouter une goutte de réactif, une couleur rose diffusant dans toutes la cupule indique une réaction positive, ou ajouter une goutte de réactifs IND un anneau rouge obtenu en 2 mn indique une réaction positive.

- **Test NO₂** : ajouter une goutte de réactif NT1 et NT2 dans le tube GLU, attendre 2 à 3 minutes, une coloration rouge indique une réaction positive.

➤ Identification

- Avec le tableau d'identification, comparer les réactions notées sur la fiche de résultat avec celles du tableau.

- Avec le catalogue analytique ou le logiciel d'identification : il faut coder l'ensemble de réactions obtenues en un profil numérique.

- Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupe de trois et une valeur 1, 2, ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, on additionnant à l'intérieur de chaque groupe les nombre correspondant à des réactions positives obtient 7 chiffres (LEYRAL et JOFFIN, 1998).

The figure shows a detailed view of the API 20 E identification card. At the top left is the 'api 20 E' logo. To its right is a CE mark and a 'REF.' field with a grid for recording reference numbers. Below the logo is a table of 20 tests, each with a well number (1, 2, or 4) and a label: ONPG, ADH, LDC, DDC, LDCI, H₂S, URE, TDA, NO, LVEJ, EGELJ, GLU, MAN, INO, SOBI, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA, OX, NO₂, N₂, MDR, MCC, OF-O, OF-F. The bottom of the card has two text boxes: one for 'Autres tests / Other tests / Andere Tests / Otras pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy' and another for 'Ident. / Ταυτοποίηση'.

Figure 09. La fiche de résultats

4.6. Tests de l'activité antibactérienne

4.6.1. Préparation du milieu de culture (MH)

Le milieu de culture utilisé pour étudier l'activité antibactérienne est Muller Hinton (MH) parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens (GAGHKAR *et al.*, 2006; MAYCHIEW et DEVAHASTIN, 2008; HUSSAIN *et al.*, 2010).

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit:

Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis autoclaver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.



Figure 10. Préparation de la gélose MH

4.6.2. Préparation des disques

Les disques sont fabriqués à partir du papier Wattman N° 3, avec un diamètre de 6mm par l'emporte-pièce. Ensuite, ces disques sont mis dans un tube à essai stérile, puis stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).

4.6.3. Stérilisation du matériel

L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

4.6.4. Préparation des dilutions d'extraits des écorces des racines de *Capparis spinosa*

Les extraits des écorces des racines de *Capparis spinosa* ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi.

4.6.5. Préparation des suspensions bactériennes

Les bactéries à tester sontensemencées sur des boîtes de Pétri, contenant milieu de culture spécifique selon les souches, et incubées pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées. A partir de ces boîtes, et à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et mises dans 5ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée. On admet que cette densité mesurée à 625 nm est équivalente à 10^8 CFU/ml (MOHAMMEDI, 2006). L'inoculum est ajusté soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

4.6.6. Méthode de diffusion à partir d'un disque solide

D'après ESSAWI et SROUR (2010). La méthode de diffusion à partir d'un disque solide a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des germes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques et des extraits bruts des écorces des racines de *Capparis spinosa*.

4.6.6.1. Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait. On a utilisé quatre antibiotiques différents.

- Cefotaxime (30 µg) pour les souches d'*Escherichia coli*.
- Amoxicilline (10 µg) pour les souches de *Salmonella sp.*
- Cefazoline (30 µg) pour les souches de *Shigella sp.*
- Cefoxitine (30 µg) pour les souches de *Klebsiella pneumoniae*.

Le choix a été fait en fonction de la disponibilité.

4.6.6.2. Test de sensibilité aux extraits bruts des plantes : aromatoigramme

La méthode des aromatoigrammes est la technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne des extraits bruts à tester. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antibactérien des extraits sur les bactéries, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis de chaque extrait, après le calcul des diamètres des zones d'inhibition.

Le principe de la méthode de l'aromatoigramme est présenté dans la figure (11).

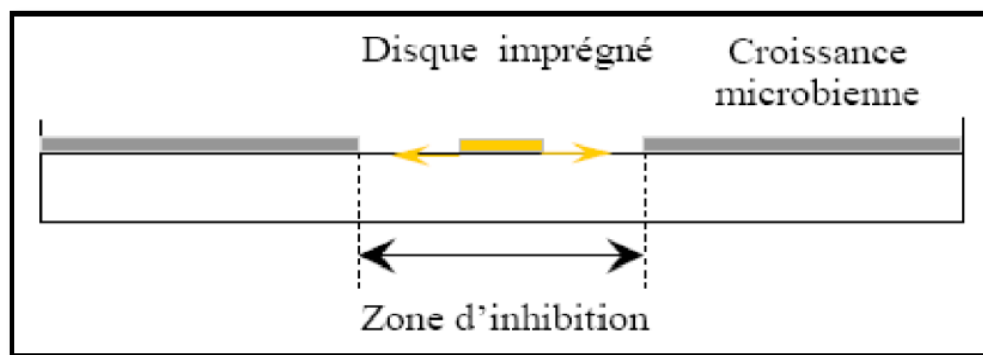


Figure 11. Le schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatoigramme (HALLAL, 2011)

a. Ensemencement

- L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne.
- Essorer le en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en Stries serrées. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

b. Application des disques

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques doivent être espacés de 24mm, centre à centre.
- Les disques imprégnés d'extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose à l'aide de pince bactériologique stérile et ne pas déplacer les disques après application.
- **Control positif** : les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés.
- **Control négatif** : les disques Wattman imprégnés de DMSO (témoin négatif).

c. Incubation

L'incubation se fait dans un étuve, pendant 24 heures à 35°C. Les résultats observés le lendemain de l'expérience.

d. Lecture

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, de l'extérieur de la boîte fermée.

- Comparer ces résultats aux différents extraits et avec leurs dilutions
- Classer les bactéries en fonction de l'existence ou non de zones d'inhibition. La présence autour des disques d'une zone d'inhibition circulaire dans laquelle il n'y a pas de croissance de micro-organismes dénote la sensibilité de ceux-ci à cet extrait. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible.

Cette lecture est essentiellement qualitative. Trois réponses sont possibles :

- Souche sensible : le diamètre de zone d'inhibition est égal ou supérieur à 15 mm.
- Souche limite : le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 10 mm.
- Souche résistante : pas de zone d'inhibition (JEAN, 2007).

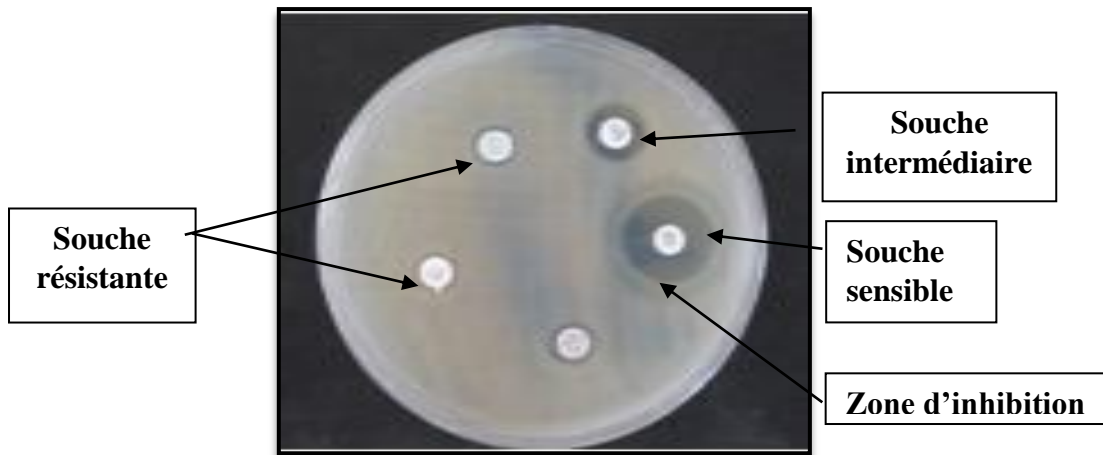


Figure 12. La lecture de résultat

On résumé les différents étapes de méthode de diffusion dans le schéma suivant :

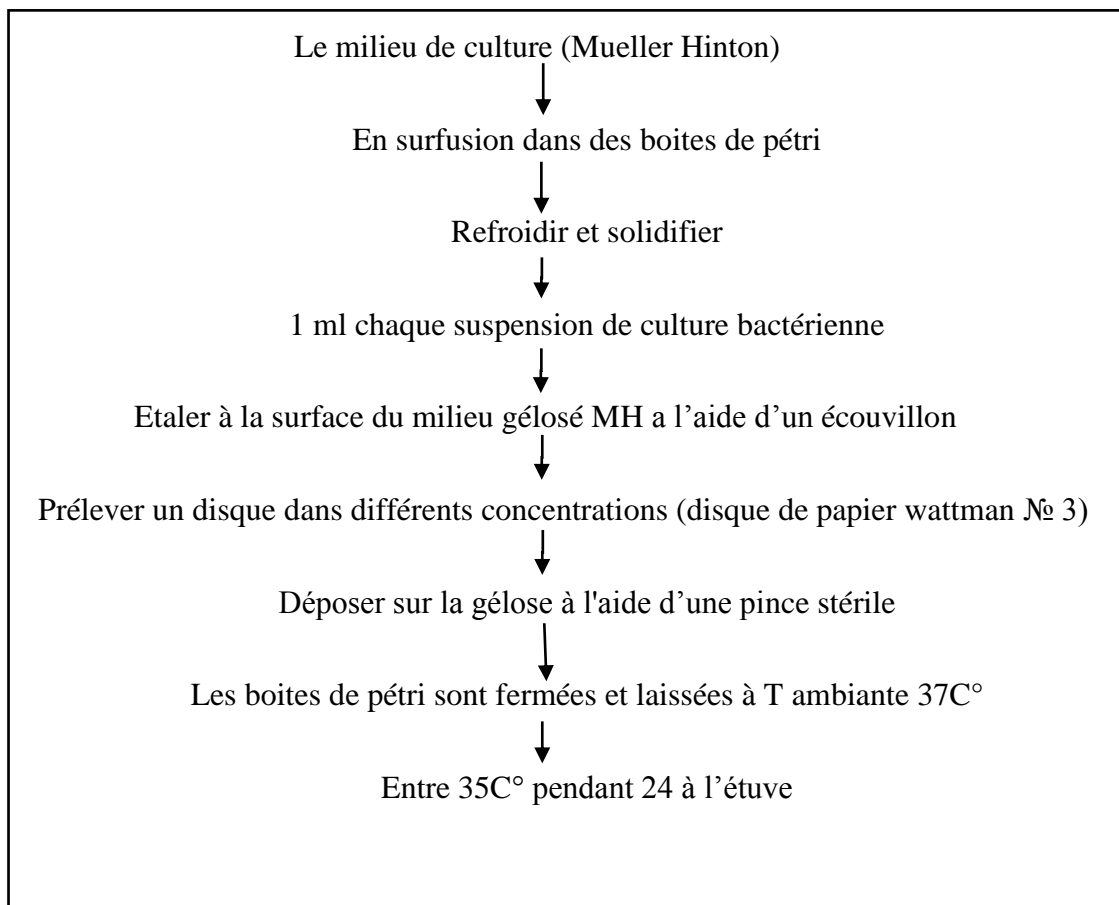


Figure 13. Schéma représentant les différentes étapes de la méthode de diffusion (HALLAL, 2011)

5. RÉSULTATS ET DISCUSSION

5.1. Récolte

L'efficacité d'une plante dépend nécessairement de sa récolte (au moment opportun et place saine) et sa conservation (dans un lieu sec, à l'abri de la poussière et de la lumière).

5.2. Séchage

L'opération de séchage a pour but d'enlever aux plantes l'eau qu'elles renferment, pour assurer une bonne conservation, afin de favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique, éviter la dégradation de certains constituants (BEKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

5.3. Extraction

L'extraction est un procédé chimique qui permet de séparer un composé d'un mélange ou d'une solution. Le meilleur solvant utilisé est celui dans lequel le composé à extraire est très soluble (BEKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

Préparation des extraits à partir des écorces des racines de *Capparis spinosa*

La préparation des extraits à partir des écorces des racines de *Capparis spinosa* a été effectuée selon la méthode de DIALLO *et al.* (2004), une extraction générale avec des solvants à polarité croissante (Ether de pétrole → chloroforme → méthanol). Cette extraction a permis d'obtenir trois extraits bruts :

- **L'extrait éthérique (Ep)**, qui représente l'extrait le plus apolaire, et le plus riche en matière grasse.
- **L'extrait chloroformique (Chl)**, représente l'extrait moyennement apolaire.
- **L'extrait méthanolique (Me OH)**, représente l'extrait polaire.

Les extraits obtenus sont de couleur et d'aspect différents (Tableau 06).

Tableau 06. Aspect et couleur de différents extraits des écorces des racines de *Capparis spinosa*

Extrait	Aspect	Couleur
Ep	Pâteux	Jaune claire
Chl	Pâteux	Jaune foncé

MeOH	Liquide	Jaune claire
------	---------	--------------

L'utilisation de différents solvants à polarité différente permet de séparer des composés selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. Cette méthode d'extraction menée à température ambiante et sous agitation contenue, permet d'extraire le maximum des composants bioactifs et de prévenir leur dénaturation ou modification probable, dont la température élevée provoque l'inactivation des composés phénoliques, la diminution de leur extractibilité dans le solvant, aussi affecte leur quantification (HAGERMANN *et al.*, 2000).

Tableau 07. Les composés que pourraient contenir les différents extraits préparés (TIWARI *et al.*, 2011)

Extraits	Constituants probables
Ether de pétrole	alcaloïdes, coumarines, acide gras.
Chloroforme	Terpénoïdes, flavonoïdes.
Méthanol	Anthocyanins, saponines, tannins, xanthoxylines, lactones, flavones, phenones, polyphénols.

5.4. Tests préliminaires

Groupes chimiques caractérisés

La mise en évidence des différentes classes des composés existantes dans la partie étudiée de la plante, nous permet d'avoir une bonne idée sur ses activités pharmacologiques. Pour cela nous avons réalisé les tests phytochimiques sur la partie des écorces des racines de *Capparis spinosa*.

Ces tests sont en relation avec l'intensité du précipité et de turbidité ou la coloration est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

Les résultats de ces tests phytochimiques sont reportés dans le tableau (08).

Tableau 08. Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans les extraits des

Groupe chimique	Extraits	Résultats des réactions en tube
Alcaloïdes	Ep	+++
	Chl	++
	MeOH	+
Carbohydrates	Ep	++
	Chl	+++
	MeOH	++
Glycosides	Ep	+++
	Chl	+++
	MeOH	+
Saponines	Ep	+
	Chl	+++
	MeOH	+
Phytostéroles	Ep	-
	Chl	-
	MeOH	-
Triterpènes	Ep	-
	Chl	+++
	MeOH	++
Phénols	Ep	++
	Chl	+
	MeOH	+
Tanins	Ep	-
	Chl	-
	MeOH	-
Flavonoïdes	Ep	-
	Chl	+++
	MeOH	++
Ditrepènes	Ep	+
	Chl	+++
	MeOH	++
Protéine	Ep	-
	Chl	+
	MeOH	+++

écorces des racines de *Capparis spinosa*

- : Test négatif
+ : Test faiblement positif

++ : Test positif
+++ : Test fortement positif

Les essais phytochimiques effectués sur les extraits des écorces des racines de *Capparis spinosa* ont révélé la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, et l'absence des tanins et polystérols dans la plante, ce qui est en accord avec les résultats obtenus par PANICO *et al.* (2005) et SHARAF *et al.* (2000).

La présence des saponines, des triterpènes et diterpènes accord avec les résultats obtenus par AL-SAID *et al.* (1988).

Le test préliminaire a révélé la présence aussi des métabolites primaires tels que les glycosides, les protéines dans nos échantillons, le résultat est positif indiquant la richesse des racines en métabolites primaires.

L'extrait moyennement polaire montre une présence des métabolites secondaire telle que les flavonoïdes, les terpénoïdes et les saponines plus importante que les extraits apolaires et polaires.

Suite à notre recherche bibliographique il n' y a pas eu de travaux phytochimiques sur l'écorce des racines de *Capparis spinosa* en exacte.

5.5. L'isolements et identification des souches

5.5.1. Isolement et purification des souches

Le traitement de différents échantillons des selles a été entrepris uniquement dans le but d'isoler les souches d'entérobactéries. De ce fait, seuls les colonies suspectées appartenir aux entérobactéries sont retenues et repiquées à nouveau.

5.5.2. Identification des souches isolées

Les observations macroscopique et microscopique donnent un nombre intéressant d'informations sur les caractères cultureux de différentes souches d'entérobactéries isolées.

5.5.2.1. Observation macroscopique

Sur milieu gélosé ordinaire, l'aspect des colonies de différentes souches se présente comme la suit :

➤ *Escherichia coli*

Les colonies sont bombées, rondes à bord net avec un surface lisse et brillant (Figure 14). Ce résultat confirme les notifications de JOLY et REYNAUD (2002).



Figure 14. Aspect des colonies d'*Escherichia coli* sur milieu Hektoen

➤ *Salmonella sp*

Les colonies apparaissent vertes à centre noir sur le milieu Hektoen ce résultat confirmé avec FRENEY *et al.* (2007).

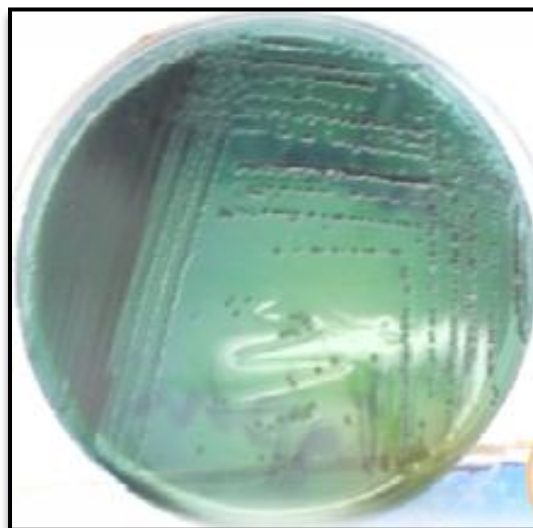


Figure 15. Aspect des colonies de *Salmonella sp* sur milieu Hektoen

➤ *Klebsiella pneumoniae*

Les colonies sont grosses, muqueuses, bombées, rondes à bord net, leurs surfaces sont lisses et brillants. Ce résultats sont confirment dans littérature de AVRIL *et al.* (2000).



Figure 16. Aspect des colonies de *Klebsiella pneumoniae* sur la gélose nutritive

➤ *Shigella sp*

Les colonies apparaissent de façon incolore sur le milieu SS Ce résultat confirme les notifications de JOLY et RYNAUD (2002).

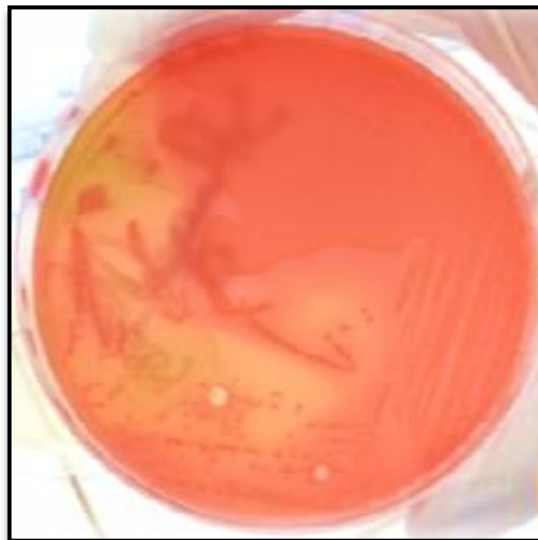


Figure 17. Aspect des colonies de *Shigella sp* sur milieu SS

5.5.2.2. Observation microscopique

a- Le but de l'examen à l'état frais est d'étudier la mobilité des bactéries, toutes les souches d'entérobactéries isolées des prélèvements des selles sont mobiles par ciliature péritriche sauf les souches de *Klebsiella pneumoniae* et *Shigella sp* qui est immobiles. Ce résultat est confirmé dans littérature de JOLY et REYNAUD (2002).

b- Après la coloration de Gram, l'observation microscopique des différentes souches a montrée des bacilles en rose (Figure 18), indique que la paroi de toutes les souches d'entérobactéries étudiées est Gram négatif ce qui est confirmée par JOLY et REYNAUD (2002).

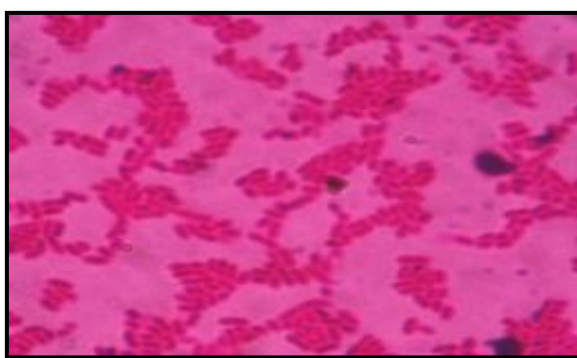


Figure 18. Bacilles Gram négatif de (G×100)

5.5.2.3. Identification biochimiques des souches isolées

a. Test de catalase

Au cours de la réalisation de test, nous avons observés le dégagement de bulles de gaz (Figure 19), indique que toutes les souches d'entérobactéries que nous avons étudiées ont présentés un caractère catalase positif. Ce qui a été de CARIP (2008).

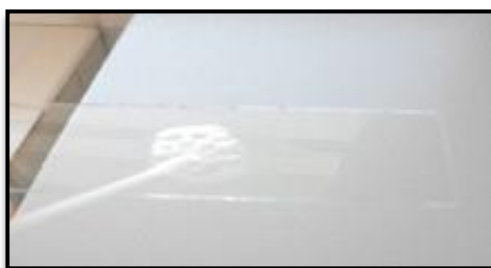


Figure 19. Test catalase positif

b. Test d'oxydase

Ce test est bon indicateur pour l'identification de différentes espèces appartenant à la famille d'Enterobacteriaceae. Après quelques minutes, les disques d'oxydases testés pour toutes les souches ne sont pas devenus violets ce qui montre que toutes ces souches ne possèdent pas l'enzyme oxydase, selon CARIP (2008) et FRENEY *et al.* (2007).

c. la galerie Api 20 E

Dans notre étude, l'interprétation se fait manuellement à l'aide du tableau d'identification. Après l'incubation, la lecture de la galerie est réalisée par le tableau de lecture (Voir l'annexe).

Les résultats obtenus concernant la particularité de chaque souche.

Tableau 09. Résultats de lecture des galeries biochimiques API 20 E

Test / Espèce	ONP	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
<i>E. coli</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
<i>Salmonella sp</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Shigella sp</i>	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Les figures suivantes illustrent les résultats.



Figure 20. La Galerie Api 20E d'*Escherichia coli*



Figure 21. La Galerie Api 20E de *Salmonella sp*



Figure 22. La Galerie Api 20E de *Klebsiella pneumoniae*



Figure 23. La Galerie Api 20E de *Shigella sp*

A l'issus des examens macroscopiques, microscopiques et biochimiques, les souches isolées qui ont des critères en accord avec les données bibliographiques de JOLY et REYNAUD (2002), AVRIL *et al.* (2000), JOFFIN et LEYRAL (2006), et CARIP (2008). Sur les critères d'identification des entérobactéries nous a permet de retenir 4 souches : *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sp*.

5.6. Activité antimicrobienne

La méthode de disque a permis de déterminer l'action des extraits de la plante dissouts dans le DMSO sur les différentes souches, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier wattman.

L'antibiogramme comme témoin positif a pour but de prédire la sensibilité d'un microorganisme vis-à-vis d'un antibiotique pour chaque souche, les souches testé sont des bactéries à Gram - de la famille d'Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sp*) ont montré des sensibilités différentes aux antibiotiques

standards testés : Cefotaxime (CTX), amoxicilline (AM), cefoxitine (FOX), cefazoline (CZ) successivement.

Les disques imprégnés de DMSO seulement utilisé comme témoin négatif, on observe la présence de la croissance bactérienne dans cette zone.

Les résultats de l'évaluation antimicrobienne des extraits présentés dans les tableaux et les figures ci-dessous montrent que :

Tableau 10. Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait éthérique

Les souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)				Control +	Control - (DMSO)
	Les dilutions d'Ep					
	1	1/2	1/4	1/8		
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	23,56±0,5	-
<i>Salmonella sp</i>	-	-	-	-	21,29±0,18	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12±0,15	9,58±0,51	9,50±0,43	8,06±0,1	20,1±0,11	-
<i>Shigella sp</i>	-	-	-	-	21,79±0,79	-

Tableau 11. Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait chloroformique

Les souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)				Control +	Control - (DMSO)
	Les dilutions de Chl					
	1	1/2	1/4	1/8		
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	23,56±0,5	-
<i>Salmonella sp</i>	17,78±0,47	17,48±0,46	16,67 ± 0,5	3,35 ± 0,4	21,29±0,18	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	20,1±0,11	-
<i>Shigella sp</i>	16,52±0,42	16,15±0,13	13,45±0,67	-	21,79±0,79	-

Tableau 12. Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait méthanolique

Les souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)				Control +	Control - (DMSO)
	Les dilutions de l'MeOH					
	1	1/2	1/4	1/8		

<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	23,56±0,5	-
<i>Salmonella sp</i>	-	-	-	-	21,29±018	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	20,1±0,11	-
<i>Shigella sp</i>	-	-	-	-	21,79±0,79	-

(-) : pas de zone d'inhibition produite autour des disques.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre et la variation de l'activité antimicrobienne des extraits expliquent les variations de leurs compositions chimiques, ce qui confirme que la plante de *Capparis spinosa* est douée de propriétés antimicrobiennes.

La souche d'*Escherichia coli* se révèle la plus résistante pour tous les extraits quel que soit la dose, et les souches *Salmonella sp* et *Shigella sp* sont résistantes pour l'extrait éthérique et méthanolique mais sensible pour l'extrait chloroformique, et la souche *Klebsiella pneumoniae* résistante pour l'extrait chloroformique et méthanolique mais sensible pour l'extrait éthérique.

Les deux extraits éthérique et chloroformique se sont révélés actifs avec un degré différent, lié au contenu des extraits aux substances à une activité antimicrobienne mais l'extrait méthanolique inactif pour toutes les souches bactériennes quel que soit la dose.

Mais cette activité non significative par rapport aux antibiotiques testés.

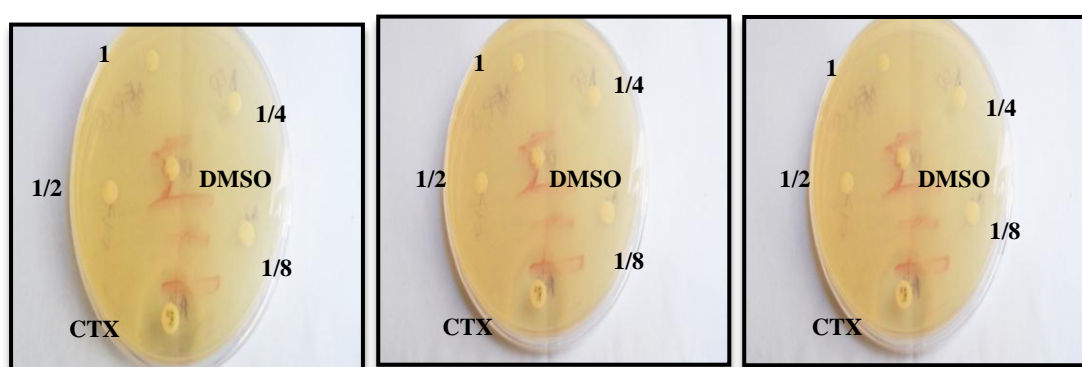


Figure 24. L'effet de l'extrait éthérique, chloroformique, méthanolique sur la souche *Escherichia coli*

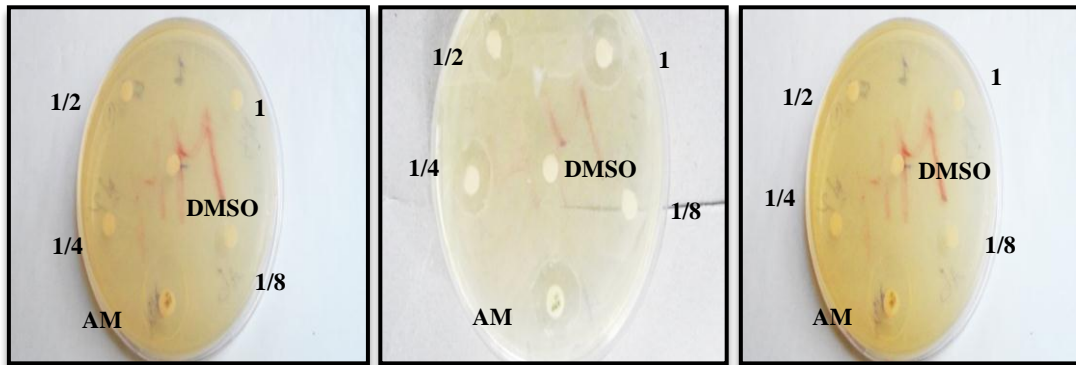


Figure 25. L'effet de l'extrait étherique, chloroformique, méthanolique sur la souche *Salmonella sp*

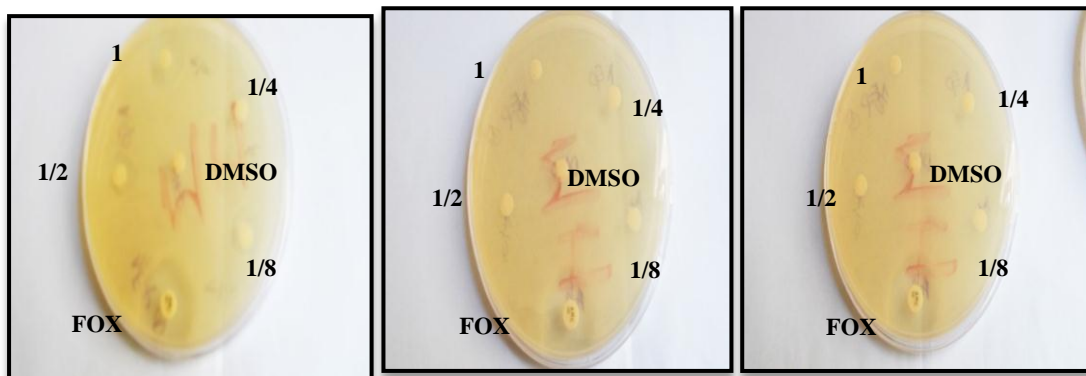


Figure 26. L'effet de l'extrait étherique, chloroformique, méthanolique sur la souche *Klebsiella pneumoniae*

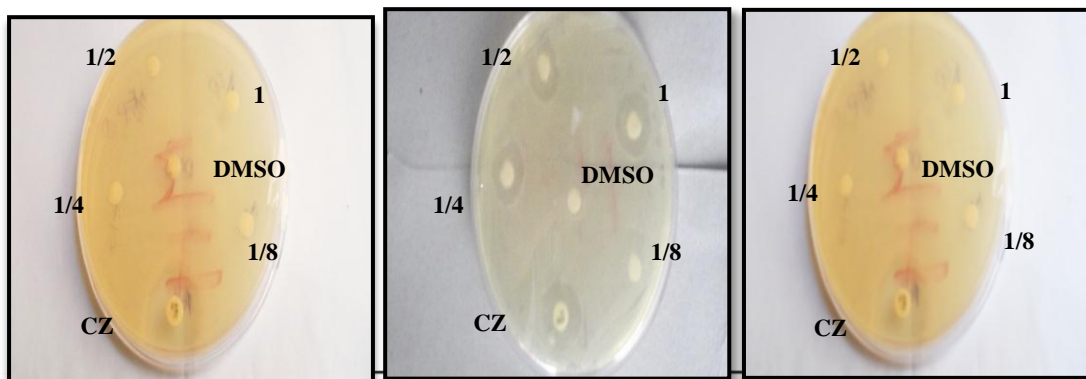


Figure 27. L'effet de l'extrait éthérique, chloroformique, méthanolique sur la souche *Shigella sp*

Tous les extraits des écorces des racines de *Capparis spinosa* sont inactif sur la souche *Escherichia coli*, notre résultat corrobore avec celui le résultat de BOGA *et al.* (2011), et aussi PROESTOS *et al.* (2006) et MEDDOUR *et al.* (2013) ont travaillé sur les feuilles de *C. spinosa*, et ils ont trouvé que les extraits est inactif sur *E. coli*.

L'extrait étheropétrolique inactif pour les souches *Escherichia coli*, *Salmonella sp* et *Shigella sp*, mais à un effet inhibiteur sur la souche *Klebsiella pneumoniae*, s'expliquer par l'effet antimicrobien puissant des composés apolaires de l'extrait éthérique telle que alcaloïdes, coumarines, acide gras (TIWARI *et al.*, 2011).

Les alcaloïdes renferment des substances organiques azotées basiques sont dotées de propriétés toxiques et a un pouvoir antibactérien élevé (MARZOUK *et al.*, 2009). Ces alcaloïdes présents dans nos extraits apolaires pourraient être en partie responsables de l'activité antibactérienne obtenue.

Ce qui concerne l'extrait chloroformique semble avoir l'effet inhibiteur le plus puissant, parmi les trois extraits, en présentant des zones d'inhibition de croissance avec les souches de *Salmonella sp* et *Shigella sp*, s'expliquer par l'effet antimicrobien puissant des composés moyennement polaires de l'extrait chloroformique telle que les flavonoïdes et les terpénoïdes (TIWARI *et al.*, 2011).

Les flavonoïdes et les terpénoïdes ainsi que d'autres composés de nature phénolique ou groupes hydroxyle libres, qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs (MARJORIE, 1999). La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits d'une même plante.

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait (ESSAWI et SROUR, 2000).

L'activité antibactérienne des flavonoïdes peut être expliquée par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes, qui agiraient à plusieurs niveaux se fait soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, la chélation des ions métalliques, inhibition

du métabolisme bactérien, la séquestration de substances nécessaires à la croissance des bactéries (KAROU *et al.*, 2005). Et l'activité des terpénoïdes parmi les hypothèses avancées, l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique, l'altération des fonctions de la membrane cytoplasmique, la séquestration de substrats nécessaires à la croissance microbienne et l'inhibition du métabolisme énergétique microbien (JUNGKIND, 1995).

Ce travail avait pour objectif l'évaluation d'activité antibactérienne des extraits bruts (EP, Chl, MeOH) des écorces des racines de *Capparis spinosa*, sur quelques souches d'entérobactéries causant la diarrhée, plante largement utilisée en médecine traditionnelle à travers le monde surtout dans les régions méditerranéennes.

Cette étude a été débutée par une extraction à polarité croissant suivie par des tests phytochimiques préliminaires. Ces derniers sont indispensables car il nous permet d'avoir une idée primaire sur les différents composés existants dans les écorces des racines de la plante.

En ce qui concerne l'évaluation de l'activité antibactérienne, elle est débuté par le traitement des prélèvements des selles suivie par l'isolement et l'identification des entérobactéries, et enfin des tests d'activité antibactérienne des trois extraits (Ep, Chl, MeOH) par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

L'extrait chloroformique a présenté une bonne activité contre *Salmonella sp* et *Shigella sp* et l'extrait étherpétrolique a une activité moyenne contre *Klebsiella pneumoniae* seulement. En revanche l'extrait méthanolique n'a présenté aucune activité vis-à-vis les quatre bactéries testé.

Pour ces trois extraits, nous remarquons que l'extrait chloroformique montre une activité plus importante que l'extrait méthanolique et étheropétrolique grâce aux composés chimiques isolés dans cette phase d'extraction.

Les mécanismes d'action des molécules présentant dans les extraits contre diverses bactéries sont très compliqués, il serait donc nécessaire d'étudier plus loin et de comprendre le rapport entre l'activité antibactérienne et la structure chimique des composés existant dans les extraits examinés.

Malgré les études faites sur *C. spinosa*, ce travail présente la première étude dans ce contexte, ses résultats sont importants mais reste préliminaire, d'autres études et recherches sont indispensables pour confirmer ces résultats au niveau moléculaire.

Références Bibliographiques

1. ABERKANE M. C. 2006. Etude phytochimique de la plante *Publicaria laciniata*. Thèse de doctorat, université El Hadj Lakhdar, Batna, 163 p.
2. ABU KHALAF G., ARAFEH R. 2010. *Capparis spinosa* L. "Caper": In Vitro Propagation, Callus Culture and Secondary Metabolites Production and Bioassay. Conference on Biotechnology Research and Applications in Palestine 1:68-69.
3. AGHEL N., RASHIDI I., MOMBEINI A. 2007. Hepatoprotective Activity of *Capparis spinosa* Root Bark Against CCl₄ Induced Hepatic Damage in Mice. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 6(4):285-290.
4. AL-SAID M. S., ABDELSATTAR E. A., KHALIFA S. I., EL-FERALY F. S. 1988. Isolation and identification of an anti-inflammatory principle from *Capparis spinosa*. Pharmazie 43:640-641.
5. AUBRY P., 2013. Diarrhées infectieuses. Médecine Tropical : 1-7.
6. AVRIL J. L., DABERNAT H., DENIS F., MONTIEL H. 2000. Bactériologie clinique. 2^{ème} édition, Ellipses, Paris, p. 171-177.
7. AYTAC Z., KINACI G., CELYLAN A. 2009. Yield and some morphological characteristics of caper (*Capparis spinosa* L.) population cultivated at various slopes in aegean ecological conditions. Pak. J. Bot 41(2):591-596.
8. BAKHOUM I. 2004. Contrôle de qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne. Thèse de pharmacie, université Cheikh Anta Diop, Dakar, 76 p.
9. BARBERA G. 1991. Programme de recherche Agrimed : Le câprier (*Capparis spp.*). Office des publications officielles des communautés européennes, Bruxelles, p. 3, 48.
10. BEAUGERIE L., SOKOL H. 2013. Diarrhées infectieuses aiguës de l'adulte : épidémiologie et prise en charge. Presse Médicale 42:52-59.
11. BEKHECHI CH., ABDELOUAHID D. 2010. Les huiles essentielles. Office des publications universitaires, Alger, p. 10-11.
12. BELOUED A. 2009. Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires, Alger, p. 55-56.

Références Bibliographiques

13. BINGEN E., DENIS F., MARTIN C., POLY M. C., QUENTIN R. 2007. Bactériologie médicale : Technique usuelles. Massons, Paris, p. 10-12.
14. BIOMÉRIEUX. 2006. Api 20 E. Marcy l'étoile, Paris, p. 2.
15. BOGA C., FORLANI L., CALIENNI R., *et al.* 2013. On the antibacterial activity of roots of *Capparis spinosa* L. Natural Product Research 25(4):417-421.
16. BOUSKRAOUI., ZOUBIDI M. Z. A., ABID A. 1998. diarrhées aiguës et antibiothérapie chez l'enfant. J Pédiatre Puériculture 11:282-286.
17. BOUSSEBOUA H. 2002. Elément de microbiologie générale. Edition de l'Université Mentouri Constantine, p. 36-41.
18. CALIS I., AYS A., KURUU U., PIERGIORGIO A., LORENZETTO P. R. 2001. (6S)-Hydroxy-3-oxo-a-ionol glucosides from *Capparis spinosa* fruits. Phytochemistry 59:451-457.
19. CAO Y. L., LI X., ZHENG M. 2010. *Capparis spinosa* protects against oxidative stress in systemic sclerosis dermal fibroblasts. Arch Dermatol Res 302:349-355.
20. CARBONNELLE B., DENIS F., MARMONIER A., PINON G., VARGUES. 1987. Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. 2^{ème} Edition, Simep SA, Paris, p. 121-137.
21. CARIP C. 2008. Microbiologie hygiène bases microbiologiques de la diététique. Lavoisier, Paris, p. 20,77, 90, 258.
22. CARRE D. 2004. Conduite à tenir devant une diarrhée aiguë : Etiologies. EMC-Chirurgie 1, France, p. 493, 532.
23. CATTOIR V. 2005. Les bactéries à Gram négatif. Laboratoire de bactériologie et virologie hygiène, Paris, p. 20.
24. CHAIGEAU G. 2004. Prise en charge de la diarrhée aiguë du nourrisson en médecine générale : enquête dans le département de la Vienne .Thèse doctorat en médecine, Université de Poitiers, 99 p.
25. CHARDIN H., BARSOTTI O., BONNAURA MALLETT M. 2006. Microbiologie en odonto-stomatologie. Maloine, Paris, p. 06.
26. COWAN M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin Microbiol Rev 12:564-582.

Références Bibliographiques

27. CRONQUIST A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, p. 4.
28. DELARRAS C. 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier, Paris, p. 248, 251, 253.
29. DELCEY V., CHAMPION K., BERGMAN J.F. 2005. Du bon usage des antibiotiques. Elsevier Masson, Paris, p. 1683.
30. DIALLO A. M. 2005. Etude des plantes médicinales de niafunke (region Tombouctou) Phytochimie et pharmacologie de *Maerua crassifolia* Forsk (Capparidacée).Thèse de Doctorat, Université de Bamako, 125 p.
31. DIALLO D., SANOGO R., YASAMBOU H., TRAORE A., COULIBALY K., MAIGA A. 2004. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. C. R. Chimie 7:1073-1080.
32. DOHOU N., YAMNI K., TAHROUCH S., IDRISSE HASSANI L. M., BADOUC A., GMIRA N. 2003. Screening phytochimique d'une endémique Ibéro-Marocaine, *Thymelaea lythroides*. Bull. Soc. Pharm 142:61-78.
33. DUMAN E., ÖZCAN M. M. 2013. Mineral contents of seed and seed oils of *Capparis* species growing wild in Turkey. European Union 2:1-4.
34. EL OMARI J. 2007. La maladie diarrhéique à l'échelle nationale et dans la région de Marrakech Tensift el Haouz. Thèse du doctorat en médecine, Université de Marrakech, 76 p.
35. ELGHOZI J. L., DUVAL D. 1992. Pharmacologie. Médecine Flammarion, Paris, p. 289.
36. ESSAWI T., SROUR M. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology 70:343-349.
37. FENG X., LU J., ZHANG L., WANG Y., TANG K. 2011. Anti-arthritic active fraction of *Capparis spinosa* L. fruits and its chemical constituents. Yakugaku Zasshi 131(3):423-429.
38. FIGARELLA J., LEYRAL G., TERRET M. 2007. Microbiologie générale et appliquée. Jacques Lanore, Paris, p. 24.

39. FOHOM TAYOU B. H. 2010. Prise en charge de la diarrhée aiguë chez les enfants de moins de 5 ans dans le service de pédiatrie du centre de sante de référence de la commune V du district de Bamako. Thèse de Doctorat en Médecine, Université de Bamako, 97 p.
40. FRENEY J., RENAUD F., LECLERCQ R., RIEGEL P. 2007. Précis de bactériologie clinique. ESKA, Paris, p. 979.
41. FU X. P., TAO W., MIRIBAN A., *et al.* 2008. New spermidine alkaloids from *Capparis spinosa* roots. *Phytochemistry Letters* 1:59-62.
42. GACHKAR L., YADEGARI D., REZAEI M. B., TAGHIZADEH M., ASTANEH S. A., RASOOLI I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem* 102:898-904.
43. GADGOLI C., MISHRA S. H. 1999 Antihepatotoxic activity of p-methoxybenzoic acid from *Capparis spinosa*. *Journal of Ethnopharmacology* 66:187- 192.
44. GUIRAUD J. P., ROSEC J. P. 2004. Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR, Paris, p. 114.
45. HAGERMAN A. E., MULLER HARVEY I., MAKKAR H. P. S. 2000. Quantification of tannins in tree foliage. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture : 26-27.
46. HALLAL Z. 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des Citrus application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Thèse de Magister en biologie, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 78p.
47. HART T., SHEARS P. 1997. Atlas proche de microbiologie. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, p. 113.
48. HUSSAIN A. I., ANWAR F., CHATHA S. A. S., JABBAR A., MAHNOOB S., NIGAM P. S. 2010. *Rosmarinus officinalis* essential oil : antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology* 41:1070-1078.
49. INOCENIO C., RIVERA D., OBON M. C., ALCARAZ F., BARRENA J. A. 2006. A systematic revision of *Capparis* section *Capparis* (Capparaceae). *Ann Mo Bot Gar* 93:122-149.

50. JEAN L. C. 2007. Microbiologie Alimentaire. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc, p. 128.
51. JIANG H. E., LI X., FERGUSON D. K., WANG Y. F., LIU C. J., LI C. S. 2007. The discovery of *Capparis spinosa* L. (Capparidaceae) in the Yanghai Tombs (2800 years b.p.), NW China, and its medicinal implications. *Journal of Ethnopharmacology* 113:409-420.
52. JOFIN J. N., LEYROL G. 2006. Microbiologie technique. Scérèn, Paris, p. 26- 27, 37,138.
53. JOLY B., REYAUND A. 2002. Entérobactéries ; systématiques et méthodes de diagnostic. Lavoisier, Paris, p. 3-4, 11, 16.
54. KAROU D., DICKO M. H., SIMPORE J., YAMEOGO S., SANON S., TRAORE A. S. 2005. Activités antioxydants et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Maitrise des procédés en vue d'améliorer la qualité des aliments, utilisation des OGM, analyse des risques en agroalimentaire Ouagadougou : 1-4.
55. KAUFMANN S. H. E. 1997. Host response to intracellular pathogens. *Springer* 2:345-346.
56. KENNY L. 1997. Le câprier : importance économique et conduite technique. *Bulletin de Transfert de Technologie en Agriculture* 37:1-12.
57. KOTHE H. S. 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Toulouse, p. 75.
58. LAM S. K., NG T. B. 2009. A protein with antiproliferative, antifungal and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from caper (*Capparis spinosa*). *Phytomedicine* 16:444-445.
59. MACHEIX J., FLEURIET A., JAY A. 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Edition Presses poly technologiques et universitaires romandes : 4-5.
60. MARJORIE M. C. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* : 564-582.
61. MARZOUK B., MARZOUK Z., DECOR R., *et al.* 2009. Antibacterial and anticandidal screening of Tunisian *Citrullus colocynthis* Schrad. *Journal of Ethnopharmacology* 125:344-349.

Références Bibliographiques

62. MATES O. 2012. Entérobactéries ; caractères généraux, classification, le diagnostic de laboratoire des infections produits par les entérobactéries pathogènes. UMF-GLUJ-Naboca et CLUG- Romania : 3-5.
63. MAYACHIEW P., DEVAHASTIN S. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology* 41:1153-1159.
64. MEDDOUR A., YAHIA M., BENKIKI N., AYACHI A. 2013. Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis spinosa* L. *Lebanese Science Journal* 14(1):49-60.
65. MEZIANI M. 2012. Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomonas*. Thèse de Magister, Université Mentouri, Constantine, 67p.
66. MICHEL B. Y. 2012. Aspect de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Le Harmattan, p. 12-13.
67. MOGHADDASIAN B., ERADATMAND A. D., EGHdami A. 2012. Determination of rutin content in Caper (*Capparis spinosa*) by three analytical methods. *Annals of Biological Research* 3(9):4303-4306.
68. MOGHADDASIAN B., ERDATMAND A. D., EGHdami A. 2012. Caper the Mystique of the recent century. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 4(10):604-608.
69. MOHAMMEDI Z. 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen, 155 p.
70. MUSALLAM I., MAHMUD D., SHIBLI R. A. 2011. Micropropagation of Caper (*capparis spinosa* L.) from wild plants. *Functional Plant Science and Biotechnology* 5(1):17-21.
71. NAPOCA C. 2012. Enterobacteriaceae - caractères généraux, classifications. Le diagnostic de laboratoire des infections produites par les entérobactéries pathogènes, Romania : 1-3.
72. NAUCIEL C., VILDE J. L. 2005. Bactériologie médicale : connaissance et pratique. Masson, Paris, p. 121.

73. NDIAYE A. O., LOUM É. 2005. Les entérobactéries sécrétrices de β -lactamases à spectre élargi. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Cheikh Antadiop, Dakar A, 65 p.
74. NOSRATI H., HOSSEINPOUR FEIZI M. A., MAZIANI M., RAZBAN HAGHIGHI A. 2012. Effect of population size on genetic variation levels in *Capparis spinosa* (Capparaceae) detected by RAPDs. Eur-Asian Journal of Biosciences 6:70-75.
75. PANICO A. M., CARDILE V., GARUFI F., PUGLIA C., BONINA F., RONSISVALLE G. 2005. Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. Life Sci 77(20):79-88.
76. PERRY J. J., STALEY J. T., LORY S. 2004. Microbiologie. Dunod, Paris, p. 161.
77. PILET C., BOURDON J. L., TOMA B., MARCHAL N., BALBASTRE C. 1979. Les entérobactéries : Bactériologie. 2^{ème} édition, Doins, Paris, p. 109.
78. POLAT M. 2007. *Capparis spinosa* L. (Capparidaceae). Journal of science 7(1):35-48.
79. PRESCOTT M. L., HARLEY., KLEIN., WILLEY., SHERWOOD., WODVERTON. 2010. Microbiologie. 3^{ème} édition, Boeck Université, Paris, p. 60-61.
80. PROESTOS C., BOZIARIS I. S., NYCHAS G. J. E., KOMAITIS M. 2006. Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants : Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. Food Chemistry 95:664-671.
81. RANDREMANANA R. 2006. Impacts de l'environnement sur les diarrhées infantiles à Madagascar : Analyse du risque Campylobacter. Thèse de doctorat en biologie, université de Grenoble, France, 164 p.
82. ROBIN C. 2011. Les facteurs de risque des diarrhées de sevrage chez le chiot en élevage canin. Thèse doctorat en vétérinaire, École nationale vétérinaire d'ALFORT, 120 p.
83. ROMEO V., ZIINO M., GIUFFRIDA D., CONDURSO C., VERZERA A. 2007. Flavour profile of capers (*Capparis spinosa* L) from the Eolian Archipelago by HS-SPME/GC-MS. Food chemistry 101:1272-1278.
84. SAADAoui E., GUETAT A., TLILI N., EL GAZZAH M., KHALDI A. 2011. Subspecific variability of Tunisian wild populations of *Capparis spinosa* L. Journal of Medicinal Plants Research 5(17):4339-4348.
85. SAKCALI M. S., BAHADIR H., OZTURK M. 2008. Eco-Physiology of *Capparis spinosa* L. : A plant suitable for combating desertification. Pak. J. Bot 40(4):1481-1486.

Références Bibliographiques

86. SALPÊTRIÈRE P. 2003. Bactériologie. Faculté de Médecine, Université de Paris VI Pierre et Marie curie, Paris, p. 61-62.
87. SATYANARAYANA T., MATHEWS A. A., VIJETHA P. 2008. Phytochemical and pharmacological Review of Some Indian Capparis Species. *Pharmacognosy Reviews* 2:36-45.
88. SAWADOGO M. 1989. Contribution à l'étude chimique de trois plantes a intérêt dermatologique : *Capparis corymbosa* (Capparidacées), *Canarium schlenfurthii* (Burseracées) et *Scrofularia aquatica* L. (Scrofulariacées). Thèse Doctorat en pharmacie, Université de Paris, 169 p.
89. SCHAUENBERG P., FERDINAND P. 2010. Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes, Paris, p. 266.
90. SHARAF M., EL-ANSARI M. A., SALEH N. A. M. 2000. Quercetin triglycoside from *Capparis spinosa*. *Fitoterapia* 71:46-49.
91. SHARAF M., AL ANSARI M. A., MATIN S. A., SALEH N. A. M. 1997. Four flavonoïdes glycosides from Peganum Harmala. *Phytochemistry* 44:533-553.
92. SHER H., ALYEMENI M. N. 2010. Ethnobotanical and pharmaceutical evaluation of *Capparis spinosa* L, validity of local folk and Unanisystem of medicine. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(17):1751-1756.
93. SHERWOOD W., PRESCOTT., HARLY., KLEIN., WILLEY. 2010. Microbiologie. De Boeck, Paris, p. 168.
94. SPICER J. W. 2000. Pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie. Médecine-Sciences Flammarion, Paris, p. 40.
95. SULTAN A.O., ÇELIK T.A. 2009. Genotoxic and Antimutagenic Effects of *Capparis spinosa* L. Root Tip Meristem Cells 62(2):114-123.
96. THOMÉ T. 2007. *Capparis spinosa*. *Journal of phytochemistry* 2:5-6.
97. TIWARI P., KUMAR B., KAUR M., KAUR G., KAUR H. 2011. Phytochemical screening and Extraction. *International Pharmaceutica Scientia* 1(1):98-106.

Références Bibliographiques

98. TLILI N., ELFALLEH W., SAADAOUI E., KHALDI A., TRIKI S., NASRI N. 2010. The caper (*Capparis L.*) : Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. *Fitoterapia* : 1-9.
99. TLILI N., NASRI N., SAADAOUI E., KHALDI A., TRIKI S. 2010. Sterol composition of caper (*Capparis spinosa*) seeds. *African Journal of Biotechnology* 9(22):3328-3333.
100. TORTORA G. D., CASE B., MARTINE L. 2003. Introduction à la microbiologie. Erpi, Paris, p. 75,76.
101. VERRET GALCERAN S. 2012. Analyse des pratiques des parents d'enfants de moins de deux ans, en cas de diarrhée aiguë. Thèse doctorat en médecine, Université Paris DIDEROT - Paris7, 179 p.
102. WANG H., WANG H., SHI S., DUAN J., WANG S. 2012. Structural characterization of a homogalacturonan from *Capparis spinosa* L. fruits and anti-complement activity of its sulfated derivative. *Glycoconj J* 29:379-387.
103. YANG T., WANGC. H., CHOU G. X., WU T., CHENG X. M. 2010. New alkaloids from *Capparis spinosa* : structure and X-ray crystallographic analysis. *Food Chemistry* 123:705-710.
104. YU Y., GAO H., TANG Z., SONG X., WU L. 2006. Several Phenolic Acids from the Fruit of *Capparis spinosa*. *Asian Journal of Traditional Medicines* 1:3-4.

Sites web :

<http://Tropicals.com/catalog/vid/Capparis spinosa.htm>

Annexes 1

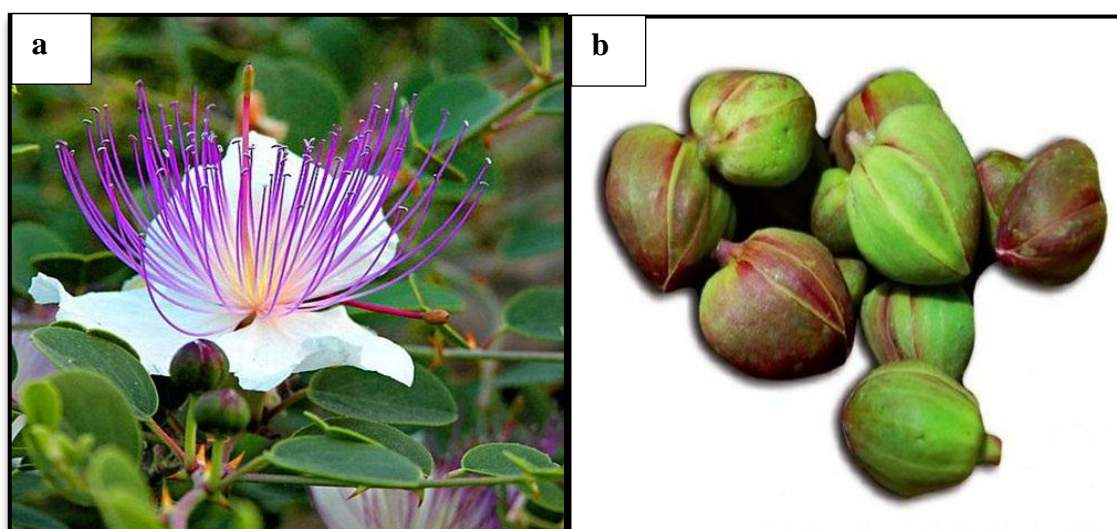


Figure 28. Photographies de la plante *Capparis spinosa*,
(a) Les feuilles, la fleur et les fruits. (b) Les câpres (bourgeons floraux).

[http://Tropicals.com/catalog/vid/Capparis spinosa.htm](http://Tropicals.com/catalog/vid/Capparis%20spinosa.htm)

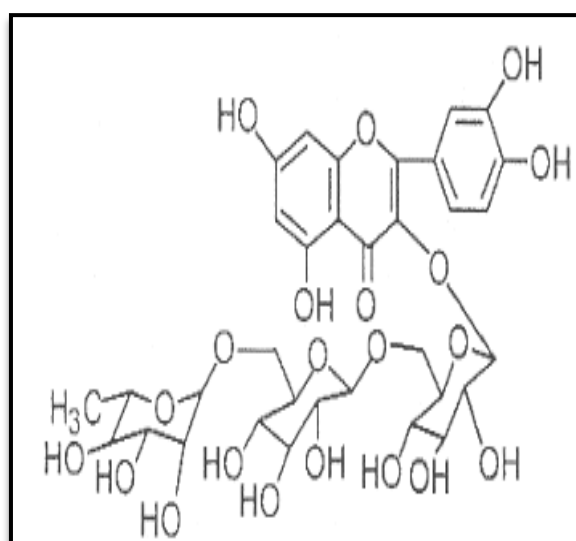


Figure 29. Structure chimique de quercetine-3-O-[6'''- α -L-rhamnosyl-6''- β -D-glucosyl]- β -D-glucoside (POLAT, 2007)

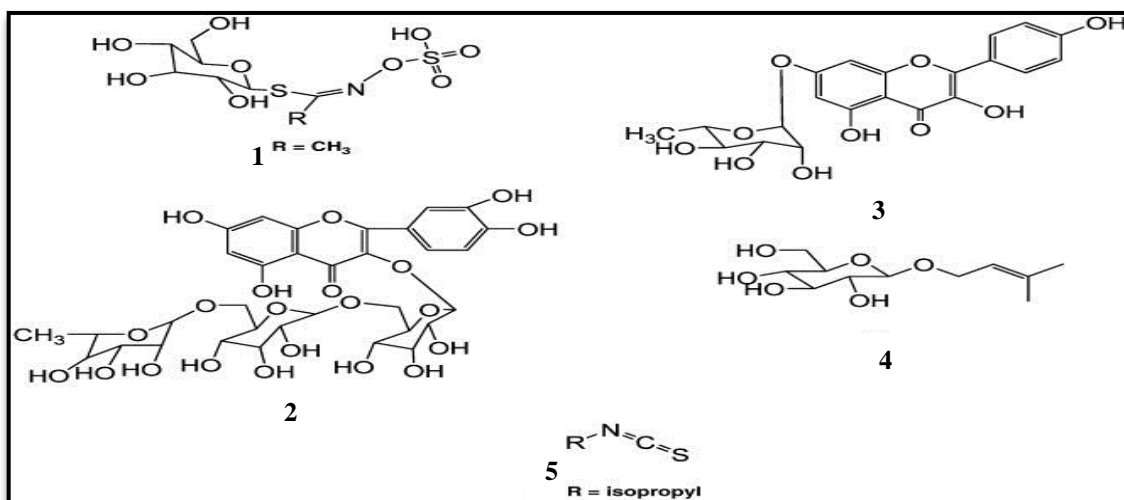


Figure 30. Structures des quelques composés chimiques de *Capparis spinosa*. (1) glucocapperin, (2) 3- O- [6 - α -L- rhamnosyl -6 '' - β -D- glycosyle] - β -D-glucoside, (3) kaempferol -7- rhamnoside, (4) glucoside prenyl, (5) isothiocyanate isopropylique (TILILI *et al.*, 2010)

Annexes 2

1-Matériels et outils de l'extraction



Balance de précision



Agitateur



Bicher



Éprouvette



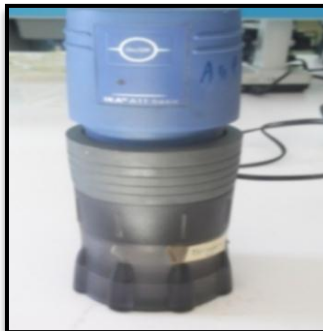
Erlenmeyer



Papier filtre



Balance électrique



Broyeur



Rotavapeur

2. Matériels et outils pour l'étude de l'activité antibactérienne



Boîtes de Pétri



Anse de platine



Tube à vice



Pipettes Pasteur



Écouvillon



Bec benzène



Bain marine



Etuve



Ligands



Disques



Eau physiologie



Microscope optique



Distributeur



Réactifs de coloration

Annexes 3

Les milieux de culture utilisés et leurs compositions

➤ **Gélose nutritive ou ordinaire (GN) selon JOFFIN et LERYAL, 2006**

- Extrait de viande1,0 g
- Extrait de levure2,0 g
- Peptone5,0 g
- Chlorure de sodium5,0 g
- Agar15 g

pH = 7,4

➤ **Milieu Hektoen selon JOFFIN et LERYAL, 2006**

- Protéose-peptone12 g
- Extrait de levure3,0 g
- Lactose12 g
- Saccharose12 g
- Salicine2,0 g

- Citrate de fer III et d'ammonium1,5 g
 - Sels biliaires9,0 g
 - Fuchsine acide0,1 g
 - Bleu de bromothymol0,065 g
 - Chlorure de sodium5,0 g
 - Thiosulfate de sodium5,0 g
 - Agar13 g
- pH = 7, 5

➤ **Milieu Muller- Hinton (MH)** (38 g par litre)

- Infusion de viande De bœuf 300.0 cm³
 - Peptone de caséine17.5g
 - Amidon de maïs 1.5g
 - Agar7g
- pH = 7.4

➤ **Milieu S-S**

- Extrait de viande de boeuf5g
 - Bio-polytone5g
 - Sels biliaires8,5g
 - Lactose10g
 - Citrate de sodium8,5g
 - Thiosulfate de sodium8,5g
 - Citrate ferrique1g
 - Vert brillant0,330mg
 - Rouge neutre0,025g
 - Agar13,5g
- pH = 7,0

Annexes 4

➤ Méthode d'identification des entérobactéries

L'identification des entérobactéries se fait sur la base des caractères morphologiques, biochimiques, culturels et antigéniques.

Pour identifier les entérobactéries au laboratoire on dispose un type de galeries : **la galerie API 20 E.**

Lecture des galeries : la lecture des galeries se fait sous une hotte chimique et les réactions sont consignées sur une fiche de résultats comme suit :

- **ONPG** : détermination de la présence de l'enzyme –galactosidase.
- **ADH** : transformation de l'arginine (acide aminé) par l'arginine déshydrogénase.
- **LDC** : transformation de la lysine (acide aminé) par la lysine décarboxylase.
- **ODC** : transformation de l'ornithine (acide aminé) par l'ornithine décarboxylase.
- **CIT** : utilisation du citrate comme seule source de carbone.
- **H₂S** : production du sulfure d'hydrogène (HS) à partir du thiosulfate (S O).
- **URE** : libération d'ammoniac à partir de l'urée grâce à l'uréase.
- **TDA** : formation de l'acide indole pyruvique à partir du tryptophane (acide aminé) grâce à tryptophane désaminase.
- **IND** : Formation d'indole à partir du tryptophane (acide aminé).
- **VP** : Formation d'acétoïne à partir du pyruvate de sodium.
- **GEL** : Liquéfaction de la gélatine (protéine).
- **GLU** (glucose), **MAN** (mannitol), **INO** (inositol), **SOR** (sorbitol), **RHA** (rhamnose), **SAC** (sucrose), **MEL** (mélbiose), **AMY** (amygdaline), **ARA** (arabinose).

Tableau 12. Tableau de lecture de la galerie Api 20 E (BIOMÉRIEUX, 2006)

Tests	composants actif	Réactions/enzyme	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl-BD galactopyranoside	B- galactosidase (Ortho BD-galactopyranoside)	Incolore	Jaune
ADH	L- arginine	Arginine déshydrolyse	Jaune	Rouge /orangé
LDC	L- lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge / orangé
ODC	L- ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge / orangé
CIT	Trisodium citrate	Utilisation du citrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert / bleu
H2S	Sodium thiosulfate	Production d'H2S	Incolore / grisâtre	Dépôt noir /fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge / orange
TDA	L- tryptophane	Tryptophane désaminase	<u>TDA/ immédiat</u> Jaune marron rougeâtre	
IND	L- tryptophane	Production d'indole	<u>JAMES / immédiat</u> Vert pale / jaune	Incolore Rose
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétoïne	VP1 + VP2 / 10 mn Incolore rose / rouge	
GEL	Gélatine	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D – glucose	Fermentation/ oxydation (Glucose)	Bleu / bleu -vert	Jaune
MAN	D- Mannitol	Fermentation/ oxydation (Mannitol)	Bleu / bleu -vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/ oxydation (Inositol)	Bleu / bleu -vert	Jaune
SOR	D- Sorbtol	Fermentation/ oxydation (Sorbitol)	Bleu / bleu -vert	Jaune
RHA	L- Rhamnose	Fermentation/ oxydation (Rhamnose)	Bleu / bleu -vert	Jaune
SAC	D- Saccharose	Fermentation/ oxydation (Saccharose)	Bleu / bleu -vert	Jaune
MEL	D- Melibiose	Fermentation/ oxydation (Melibiose)	Bleu / bleu -vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/ oxydation (Amygdaline)	Bleu / bleu -vert	Jaune
ARA	L- Arabinose	Fermentation/ oxydation (Arabinose)	Bleu / bleu -vert	Jaune

Résumé

Capparis spinosa, appelée localement « El kabar », est une plante spontanée, aromatique et médicinale, appartenant à la famille des capparidacée, largement répandue dans les régions méditerranée. L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits des écorces de ces racines.

Les extraits organiques ont été obtenus par macération en utilisant trois solvants à polarité croissante : éther de pétrole, chloroforme, méthanol. Ces extraits ont été soumis à un criblage phytochimique de quelques molécules puis à une étude antibactérienne in vitro, contre quatre souches pathogènes de la famille des Enterobacteriaceae causant la diarrhée aiguë, en employant la méthode de diffusion à partir d'un disque.

Les tests préliminaires révèlent la présence des alcaloïdes, des saponines, terpénoïdes, phénols, flavonoïdes.

L'extrait chlorformique a présenté l'activité la plus puissante contre *Salmonella sp* et *Shigella sp*, et l'extrait étheropétrolique a une activité moyenne contre *Klebsiella pneumoniae* seulement. Alors que l'extrait méthanolique ne présente aucune activité.

Les mots clés : *Capparis spinosa*, les extraits organiques, activité antibactérienne, la diarrhée.

Summary

Capparis spinosa, called locally « El kabar », is a plant spontaneous, aromatic and medicinal, pertaining to capparidaceae family, largely widespread in the Mediterranean areas. The objective of this work is the evaluation of the antibacterial activity of the various extracts prepared from its root barks.

The organic extracts were obtained by maceration using three solvents with increasing polarity: petroleum ether, chloroform, and methanol. The extracts were subjected to a screening phytochimiques of few molecules then to a study of their antibacterial activity in vitro, against four pathogenic bacteria of Enterobacteriaceae family causing the acute diarrhea, by the method of diffusion starting from a disc.

The preliminary tests reveal the presence of alkaloids, saponins, terpénoïds, phenol, flavonoïds.

The chlorformic extract presented the most powerful activity against *Salmonella sp* and *Shigella sp*, and the etheropetrolic extract has only an average activity against *Klebsiella pneumoniae*. Whereas the methanolic extract does not present any activity.

Key words: *Capparis spinosa*, the organic extracts, antibacterial activity, diarrhea.

ملخص

Capparis spinosa، المسماة محليا «الكبار»، هي نبتة برية عطرية وطبية، تنتمي إلى عائلة capparidaceae، تنبت على نطاق واسع في مناطق البحر الأبيض المتوسط. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات مختلفة أعدت من قشرة جذور هذه النبتة.

تم الحصول على المستخلصات العضوية بواسطة عملية النقع باستخدام ثلاثة مذيبات بقطبية متزايدة: اثير البترول، الكلوروفورم والميثانول. تعرضت المستخلصات إلى الكشف عن بعض الجزيئات وإلى دراسة النشاطية ضد البكتيريا ضد أربع سلالات من البكتيريا الممرضة من عائلة Enterobacteriaceae المسببة للإسهال الحاد، وذلك باستخدام طريقة الانتشار من قرص. التجارب الأولية أظهرت وجود الألكلويد، صابونين، تربنويد، فينول، فلافونويد.

أظهر مستخلص الكلوروفورم نشاط جيد ضد *Shigella sp* و *Salmonella sp*، ومستخلص اثير البترول نشاط متوسط ضد *Klebsiella pneumoniae* فقط. اما المستخلص الميثانولي فلم يظهر اي نشاط

الكلمات المفتاحية: الكبار، مستخلصات عضوية، النشاط المضاد للبكتيريا، الإسهال.