

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOuat

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

**Etude de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de palmier dattier
(*Phoenix dactylifera*) contre certains agents responsables des infections
nosocomiales.**

Présenté par :

**BAGADI Bouchra
ZEIROUG Anfal**

Devant le jury composé de :

Président : Mr MESSAOUDI O. (MAA)

Examineur : Mr ZEROUKI.MH (MAB)

Rapporteur : Mr MADOURI .R (MAB)

Soutenu publiquement le :22 /06/2019

Remerciements

*Alhamdo li Allah, qui nous a éclairé les voies de la science et de la
Connaissance et qui nous a aidé à compléter cette recherche modeste.
Premièrement, nous remercierons Monsieur "Madouri R" pour avoir
accepté
de nous encadrer et de nous diriger, pour son soutien, ses encouragements ainsi*

que

*Pour la confiance qu'il nous a accordé en réalisant ce travail, nous le
remercions*

*Profondément pour son compréhension, son patience et son politesse
incomparable.*

*Comme nous ne pouvons pas oublier à remercier les membres du jury
Mr "Massoudi" et Mr "Zarouki" pour avoir accepté d'évaluer
Ce travail.*

*Un grand merci à "Mr Moulay moulay" et "Mr Btami" pour
accepté notre demande a visité leur palmeraies et aussi pour leur gentillesse et
leurs conseils*

*Nous voudrions exprimer notre reconnaissance envers les amis et collègues qui
nous apporté leur support moral et intellectuel tout au long de notre démarche.
Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de
Près ou de loin à la réalisation de ce travail*

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*À ma mère: **Amaria***

Celle qui m'a donné la vie la tendresse et le courage pour réussir

*Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la
reconnaissance que je porte en moi*

*À mon père: **Amhamed***

*L'épouse solide l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne
de mon estime et de mon respect*

*Aucune dédicace ne serait exprimer mes sentiments que dieu te
préserve et te procure santé et longue vie*

À mes chers frères

Faress et Abd alhakim

À mes chères sœur

Fatima, Schoumissa et Amira

À mon grand père et ma grande mère

À mes grands parents disparus

À mes oncles et mes tantes chacun a son nom

À mes chères cousins et cousines

À toutes les familles

Bagadi et djillali

*À tous mes amis et **Aicha sadeki** et ma binome **Zeiroug anfal** qui
occupent une place spéciale dans mon cœur et ma vie*

B. Bouchra . H

Dédicace

*À mes chères parents Zohra et Ferhat aux prunelles de mes yeux
Maman, Papa je ne saurais vous remercier pour tout le soutien et l'amour que
vous me portez de puis mes premiers pas dans la vie jusqu'au jour
d'aujourd'hui pour vos sacrifices et pour la confiance
que vous me portez. J'espère être à la hauteur de vos attentes. Que ce modeste
travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos
innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.
Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire
en sorte que jamais je ne vous déçoive*

*À mon époux Saddam Houcine Je te remercie pour ton aide, ta patience, ta
gentillesse, ta compréhension et ton soutien permanent,*

À mes chers frères

Mourad et Beskacem et leurs épouses

À mes chères sœur

Amal et Ritadj

Sara Khadidja et leurs époux

À ma grand mère

À mes grands parents disparu

À mes oncles et mes tantes chacun son nom

À mes chères cousins et cousines

À l'esprit disparu Issam Sahnoun

À toutes les familles

Zeiroug Benthabet Saksak

*À tous mes amis et surtout à Aicha Sadeki ma binome Bouchra Bagadi Qui
partagez-vous mon amour et mon appréciation restés les plus chères*

Z. Anfal

Liste des figures

N	Titre	Page
01	Figuration schématique du palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera l</i>)	4
2	les différentes parties de la feuille du palmier dattier	5
03	la Répartition géographique du palmier dattier dans le monde	6
04	localisation d'el Assafia commun dans la wilaya de laghouat	17
05	Palmier dattiers (<i>Phoenix dactylifera L</i>) dans son habitat naturel : région d' el Assafia -Laghouat- (A : nouvelle palmeraie B : ancienne palmeraie)	18
06	les feuilles de variétés récoltées après séchage	18
07	les différentes fractions obtenues après broyage	19
08	le rendement des extrait méthanolique et aqueux des quatre variétés utilisées	23
09	Zones d'inhibition (en mm) des six souches bactériennes testées en fonction de la concentration d'extraits méthanoliques variétés DN-A	26
10	Zones d'inhibition (en mm) des six souches bactérienne testées en fonction de la concentration d'extraits méthanoliques variétés TD-N	26
11	activité antibactérienne des extraits méthanolique de la variété DN-A sur six souches utilisées avec différentes concentrations	28
12	Zones d'inhibition (en mm) des six souches bactérienne testées en fonction de la concentration d'extraits méthanoliques variétés DN-N	29
13	Zones d'inhibition (en mm) des six souches bactérienne testées en fonction de la concentration d'extraits méthanoliques variétés TD-A	29
14	Zones d'inhibition (en mm) des souches <i>S aureus</i> en fonction de la concentration des extraits méthanoliques	30
15	Zones d'inhibition (en mm) de la souche <i>Bacillus subtilus</i> en fonction de la concentration des extraits méthanoliques	30

Liste des tableaux

N	Titre	Page
01	Répartition géographique et nombre de palmiers dattiers en Algérie	7
02	pourcentage de différents constituants de la datte	8
03	les caractéristiques des six souches utilisées dans ce travail responsables des infections nosocomiales	13
04	les différents microorganismes responsables des infections nosocomiales	14
05	Les produits utilisés durant ce travail	17
06	les différentes souches bactériennes utilisées responsables des infections nosocomiales d'origine hospitalier	18
07	Le rendement obtenu d'extrait aqueux	22
08	le rendement obtenu de l'extrait méthanolique	22
09	Résultats des tests de vérification des souches des souches utilisées	24
10	Résultats de l'activité antibactérienne (en mm) des extraits méthanolique des feuilles contre six souches	27
11	l'activité antibactérienne des extraits aqueux (en mm) des feuilles contre six souches	27
12	Résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) mg/ml	32

Liste des abr éviations

DN –A : Deglet Nour ancienne

DN-N : Deglet Nour nouvelle

TD-A : Tadala ancienne

TD-N : Tadala nouvelle

IN : infections nosocomials

ATB : antibiotique

ZI : zone d inhibitions

GM : Gentamycine

CIPRO : Ciprofloxacine

TD : Tube Digestive

CMI : concentration minimale inhibitrice

DMSO : dim éthylsulfoxyde

Pa : *Pseudompnas airegenosa*

Ec : *Escherichia coli*

Kp : *Klebisella pneomonie*

Sa : *Staphylococcus aureus*

Bs : *Bacillus subtilis*

Ef : *Enterococcus faeca*

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale 1

Partie I. Synthèse bibliographique

Chapitre I : Les palmiers dattiers

I-1-Généralités 2

I-2-Taxonomie et systématique 2

I-3-Description générale des organes du palmier dattier..... 2

I-4-Répartition géographique du *Phoenix dactylifera* L..... 3

I-5-Composition chimique de *Phoenix dactylifera* L 7

I-6 -les variétés de palmier dattier 7

I-7-importance du palmier dattier..... 8

I-7-1- qualité nutritionnelle 8

I-7-2- rôle écologique 8

I-7-3- importance économique 9

I-8-l'utilisation traditionnelle 9

I-9- Activité antimicrobienne du palmier dattier 9

Chapitre II Les infections nosocomiales

II-1-Généralité 11

II-2- mode de transmission des infections nosocomiales..... 11

II-2-1 –Infection d'origine endogène 12

II-2-2-Infection d'origine exogène 12

II -3-microorganismes responsables des infections nosocomiales 12

II-4- diagnostic des infections nosocomiales	14
II-5-traitement des infections nosocomiales.....	15
II-6-la r é sistance aux antibiotiques.....	15

Partie II : études exp é rimentales

Chapitre III : mat é riel et m é thodes

III- 1-mat é riels	17
III-1-1 mat é riels v é g é tal.....	17
a- échantillonnage	18
b-S é chage	18
c-broyage	19
1-2produits chimiques.....	19
1-3materieles de laboratoires.....	20
III- 2- m é thodes.....	21
III-2-1pr é paration de l' extrait brut	21
III-2-2D étermination de l' activit é antibact é rienne.....	21
III-2-2-1 Souches bact é riennes utilis ées.....	21
III- 2-2-2 V é rification de la puret é des souches	22
III-2-2-3pr é paration des suspensions bact é riennes.....	23
III-2-2-4-M é thode de diffusion des disques en milieu g élos é	24
III-2-2-5- M é thode de contact direct: d étermination de la CMI sur milieu liquide	24

Chapitre IV : r é sultats et discussions

IV-1-R é sultats de l' extraction.....	22
IV-2 Discussion	23
IV-3-V é rification de la puret é des souches	23
IV-4-R é sultats de l' activit é antibact é rienne	24

IV-5-Discussion	31
IV-6-Résultats de la concentration minimale inhibitrice	32
IV-7-Discussion	33
Conclusion.....	35
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction générale

Introduction générale

L'histoire de la médecine à base de plantes a été connue depuis l'antiquité. Presque toutes les cultures et civilisations de l'antiquité à ce jour, ont dépendu totalement ou partiellement de la phytothérapie pour son efficacité, son coût abordable, sa disponibilité et sa faible toxicité (Akharaiyi et al., 2010).

Depuis toujours, les hommes ont utilisé leur environnement et en particulier les plantes qui forment des sources riches en produits naturels utilisés depuis des siècles pour soigner diverses maladies (Boubakar Jet al., 2012). L'OMS a estimé que 80% de la population mondiale dépend de médicaments à base de plantes pour ses soins de santé primaires (Alagesaboopathi., 2011).

Les plantes médicinales représentent une riche source d'antimicrobiens et d'antioxydants. Un certain nombre de plantes médicinales ont été consacrées pour traiter différentes maladies chez l'homme et les animaux (Siddiqui et al., 2010); ceci est dû à la présence de molécules bioactives. Parmi ces composés bioactifs on trouve les alcaloïdes et les composés phénoliques (Hota et al., 2007). Les plantes ont été utilisées d'abord sur une base folklorique et plus tard développées de manière scientifique en unique agent médicamenteux (Shuvanich et al., 2012).

La flore saharienne connue par sa bio-résistance au climat aride est riche en espèces qui poussent à l'état sauvage. A cette richesse naturelle s'oppose cependant une rareté des stratégies adoptées pour sa valorisation. En effet, la majorité des espèces sont encore mal connues et largement sous exploitées (Chehema et Youcef, 2009)

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*) est considéré comme l'arbre des régions désertique du globe connus pour leur climat chaud et sec en raison de ses utilisations alimentaires, écologiques, sociales et économique (Baliga et al., 2011 ; Ahmed et al., 2016).

Les infections dues à des agents pathogènes à résistance multiple sont compliquées à traiter en raison des facteurs de virulence et d'un choix relativement limité des agents antimicrobiens. Ainsi, il est extrêmement important de trouver de nouveaux antimicrobiens qui sont efficaces pour le traitement des maladies infectieuses causées par des microorganismes résistants aux antibiotiques (Aiyegoro et al., 2011). Une des possibilités est de combiner des antibiotiques avec des adjuvants ou des antimicrobiens choisis dans le réservoir des composés bioactifs dans la nature (Bush et al., 2011).

Notre étude est axée sur une synthèse bibliographique renfermant l'essentiel des informations sur le sujet et une étude expérimentale suivie des résultats et de leur discussion. Pour cela nous avons adopté la méthodologie suivante :

- ✓ Extraction de la poudre végétale du palmier dattier des deux variétés (Deglet Nour et Tadala) d'une palmeraie ancienne et d'une autre nouvelle de la région de el Assafia (Laghouat) .
- ✓ Vérification de la pureté des souches bactériennes responsables des infections nosocomiales.
- ✓ Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode des disques des extraits de palmier dattier sur quelques souches responsables des infections nosocomiales.
- ✓ La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits bruts

Ce travail a été réalisé dans le but de :

- confirmer l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Phoenix dactylifera L* de quatre variétés cultivées dans la région d'el Assafia – Laghouat - et leur pouvoir antibactérien sur des agents responsables des infections nosocomiales.
- faire une comparaison entre les anciennes et les nouvelles variétés et une autre avec des antibiotiques synthétiques.

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Le palmier dattier

Phoenix dactylifera L

Chapitre I

Le palmier dattier

I-1-Généralités

Le palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L a été décrit pour la première fois par Linné en 1734.(Djerbi, 1994).

Le palmier dattier, *Phoenix dactylifera*, est parmi les espèces les plus importantes dans la famille des palmiers (Arecaceae), qui englobe environ 200 genres et plus de 2 500 espèces (El Hadrami, 2009). C'est une plante de taille moyenne 15-25 m de hauteur, se développe seul ou forme des touffes avec d'autres tiges de la même racine (Bahmanpour et al., 2006). Ses feuilles sont 4-6 cm de long ayant des épines sur les pétioles et pennées avec 150 folioles de 30cm de long et 2cm de large, portées sur des couronnes de 6 à 10 m. Les fruits sont ovales et cylindriques de 3 à 7 cm de long et 2 à 7 cm de diamètre (Ahmed et al., 2016).

I-2-Taxonomie et systématique

Le palmier dattier a été dénommé *Phoenix dactylifera* L. *Phoenix* dérive de Phoenix, nom du dattier chez les Grecs de l'antiquité qui le considéraient comme l'arbre des phéniciens ; *dactylifera* vient du latin *dactylus* dérivant du grec *dactulos* signifiant doigt, en raison de la forme du fruit. Est une plante dioïque, c'est-à-dire existe des dattiers mâles (Dokhar) et des dattiers femelles (Nakhla).(Munier, 1973).

- ✚ **Embranchement** : Phanérogames
- ✚ **Sous –embranchement** : Angiospermes
- ✚ **Classe** : Monocotylédones
- ✚ **Groupe** : Phœnocoides
- ✚ **Ordre** : Palmales
- ✚ **Famille** : Palmacées
- ✚ **Sous famille** : Coryphoideae
- ✚ **Genre** : Phoenix
- ✚ **Espèce** : *Phoenix dactylifera* L

I-3-Description générale des organes du palmier dattier

Le palmier dattier est une plante monocotylédone à croissance apicale dominante. Le diamètre du tronc de l'arbre demeure généralement stable sous les mêmes conditions à partir de l'âge adulte. On distingue trois parties : un système racinaire, un organe végétatif composé du tronc et de feuilles et un organe reproductif composé d'inflorescences mâles ou femelles (Figure 1 et 2). Les valeurs quantitatives et qualitatives des organes végétatif et reproductif sont variables. Il semble possible de caractériser les cultivars par la comparaison de la plupart de ces paramètres qui forment des index taxonomiques différentiels.

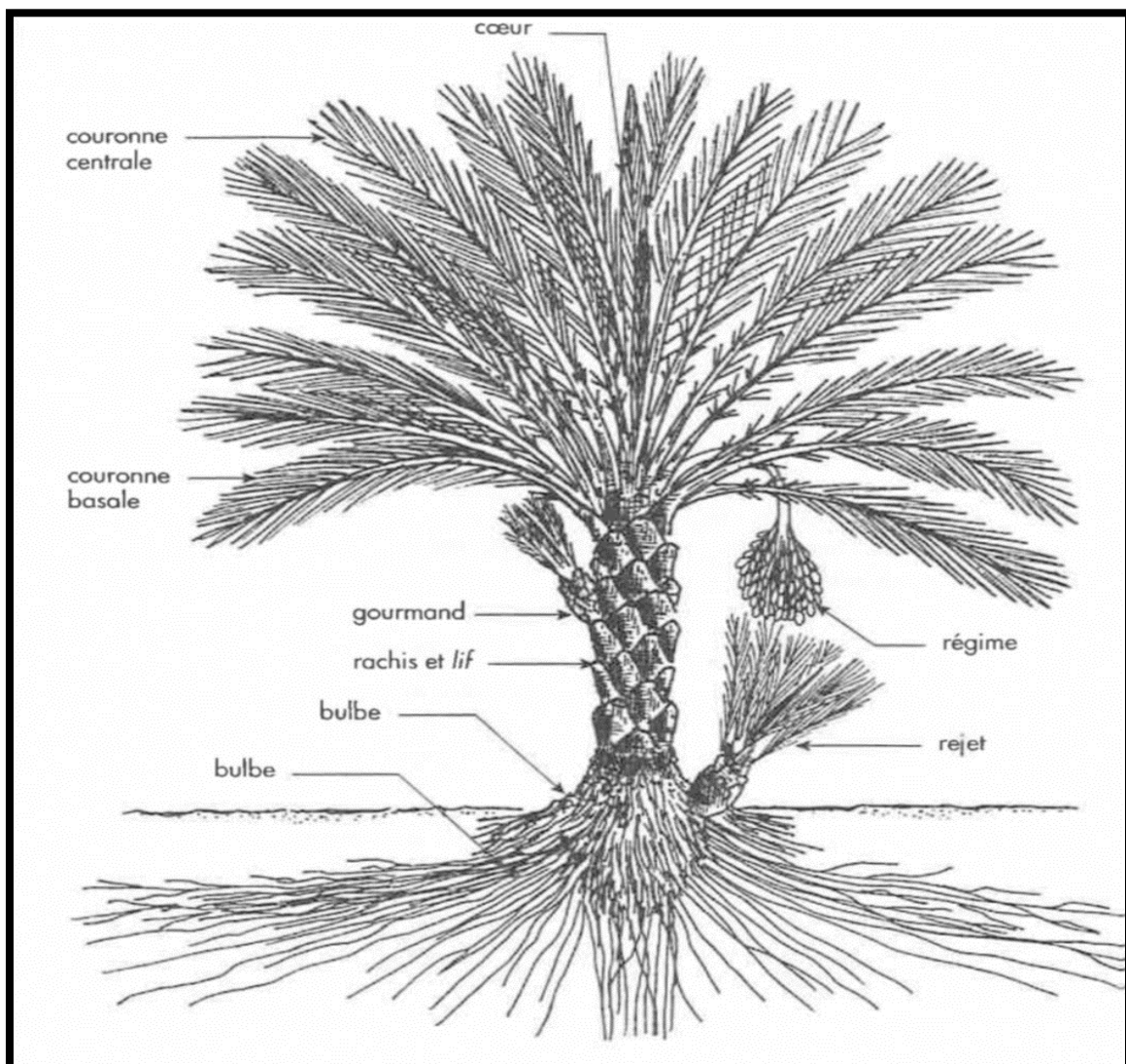


Figure 01: Figuration schématique du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*) d'après **Munier (1973)**

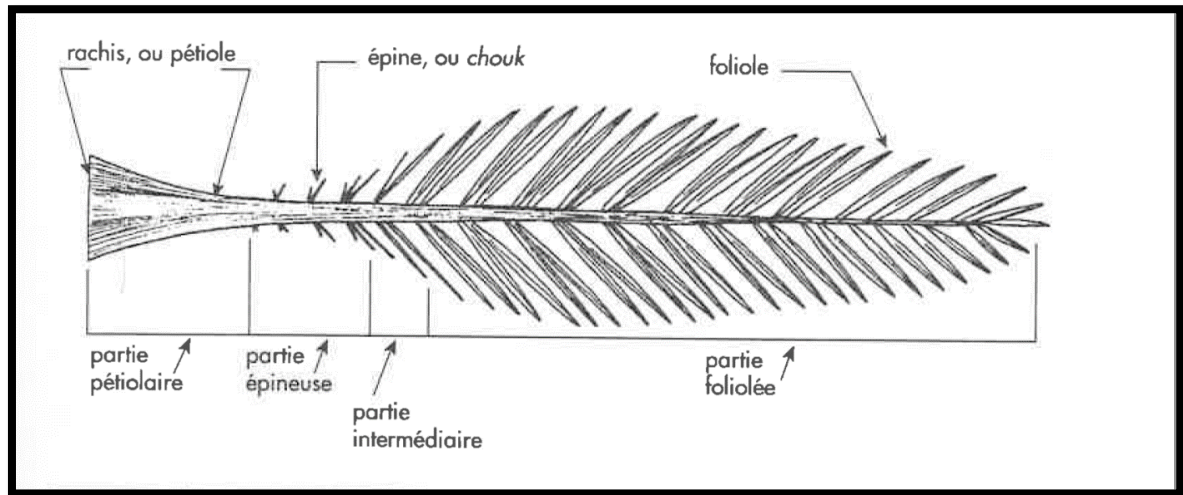


Figure 02 : les différentes parties de la feuille du palmier dattier (Munier 1973)

I-4-R épartition géographique du *Phoenix dactylifera* L

I- 4-1-Dans le monde

Le dattier est une espèce xérophile et ne peut fleurir et fructifier normalement que dans les déserts chauds (Amorsi, 1975). D'après la (figure 03), le palmier dattier fait l'objet d'une plantation intensive en Afrique méditerranéenne et au moyen-orient. L'Espagne est l'unique pays européen producteur de dattes, principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche (Toutain, 1996). Aux Etats-Unis d'Amérique, le palmier dattier fût introduit au XVIII^{ème} siècle.

Sa culture n'a débuté réellement que vers les années 1900 avec l'importation de variétés irakiennes. Le palmier dattier est également cultivé à plus faible échelle au Mexique en Argentine et en Australie. (Bougedoura, 1991 ; Matallah, 2004).

I-4-2-En Algérie

Le Sahara algérien est le plus grand désert du monde au climat très chaud et offrant ainsi l'environnement adéquat pour le développement du palmier dattier (Bougedoura et al., 2010). La culture du palmier dattier occupe toutes les régions situées sous l'Atlas saharien depuis la frontière marocaine à l'ouest jusqu'à la frontière est tuniso-libyenne. Du nord au sud du pays, elle s'étend depuis la limite sud de l'Atlas saharien jusqu'à Reggane à l'ouest, Tamanrasset au centre et Djanet à l'est.

Le palmier dattier est cultiv é au niveau de 17 wilayas seulement, pour une superficie de 120 830 hectares. Cependant, quatre principales wilayas repr ésentent 83,6 % du patrimoine phoenicicole national : Biskra 23 %, Adrar 22 %, El-Oued 21 % et Ouargla 15 % (Laouni S .2014)



Figure 03:la R épartition g éographique du palmier dattier dans le monde (El Hadrami , 2009)

Tableau 01 :R épartition g éographique et nombre de palmiers dattiers en Alg érie (Laouni S ,2014)

Wilaya	Superficie occupee (ha)	Deglet nour	Ghars	Degla beida	Total
El oued	27395	1808140	681000	284860	2774000
Biskra	24894	1319190	430710	783460	2533360
Ouargla	19625	0	0	27047780	2704780
Adrar	16811	967580	846450	120170	1934200
Autre	15665	315640	257520	151615	2089310
Total	104390	441550	221568	5409420	12035650

I-5-Composition chimique de *Phoenix dactylifera L*

Phytochimiquement, toute la plante contient des hydrates de carbone, alcaloïdes, stéroïdes, flavonoïdes, vitamines et des tanins. Le profil phénolique de la plante a révélé la présence d'acides principalement cinnamiques, glycosides de flavonoïdes et des flavanols (Seelig, 1974; Dowson, 1982; Biglari et al., 2008).

Les polyphénols jouent un rôle important dans le corps, ils ont des effets anti-inflammatoires antioxydants abaissent la tension artérielle renforcent le système immunitaireetc.

I-6 -Les variétés de palmier dattier

Elles sont très nombreuses et se différencient par leurs saveurs, consistances, formes, couleurs, poids et dimensions (Buelguedj, 2002). En Algérie, il existe plus de 940 cultivars de dattes Les principales variétés cultivées sont :

Deglet-Nour : Variété commerciale par excellence. C'est une datte demi-molle, considérée comme étant la meilleure variété de datte du fait de son aspect, son onctuosité et sa saveur. A maturité la datte est d'une couleur brune ambrée avec un épicarpe lisse légèrement plissé et brillant, le mésocarpe présentant une texture fine légèrement fibreuse.

Variétés communes : Ces variétés sont de moindre importance économique par rapport à Deglet-Nour. Les plus répandues sont : Ghars, Degla-Beïla Tadala et Mech-Degla. (Makhloufi A, 2012)

I-7-L'importance du palmier dattier

I 7-1- qualité nutritionnelle

La datte est un aliment historique de grande valeur énergétique car elle est une source riche en glucides, en fibres alimentaires, en composés phénoliques, en vitamines et en macroéléments faisant d'elle un aliment naturel pour l'humanité (Dowson et al., 1963)

Tableau 02 : pourcentage de différents constituants de la datte (Pyron ,2000)

Constituant	Pourcentage du poids à l'état frais
Eau	13.70
Protéines	1.5
Saccharose	30.36
Glucose	10.4
Fructose	9.6
Cellulose	7.20
Lipides	0.05
Cendres	2.32

I-7-2-Rôle écologique

Dans le Sahara Algérien, le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*) est le pilier des écosystèmes oasiens ou il permet de limiter les dégâts d'ensablement, joue un rôle protecteur contre le rayonnement solaire intense pour les cultures sous-jacentes (arbres fruitiers, cultures maraichères et céréales). Par sa présence dans ces zones désertiques, les diverses formes de vies animales et végétales indispensables pour le maintien et la survie des populations, sont possibles. (Ouinten M , 1995) .

I-7-3 -importances économiques dans le monde et en Algérie

La production mondiale des dattes est presque de 8 millions de tonnes générant ainsi chaque année des millions de Dollars US pour les pays producteurs.

En Algérie la superficie occupée par la culture de palmier dattier couvre 160 000 ha qui représente actuellement plus de 18 millions de palmier avec une production annuelle moyenne de dattes de plus de 500 000 tonnes en 2011 / 2012

La production des dattes était de 700 000 tonnes avec plus de 30 000 tonnes pour l'exportation. (Bouguedoura et al ., 2015)

Les surfaces des palmeraies diffèrent d'une wilaya à une autre la superficie la plus importante concerne les wilayas de Biskra et d'El oued atteignant toutes les deux 53533 ha.

I-8- Utilisations des dattes en médecine traditionnelle

Energétique, le fruit permet de lutter contre l'anémie et les déminéralisations. Il est donc recommandé aux femmes qui allaitent. Régulatrices de la fonction intestinale, les dattes pilées dans de l'eau soignent les hémorroïdes, les constipations, mais aussi les dattes vertes traitent les troubles intestinaux comme les diarrhées. Calmantes sous forme de sirop très concentré le robb, cette préparation apaise et endort les enfants. Elle est aussi utilisée pour les maladies nerveuses et dans les affections broncho-pulmonaires. En décoction ou en infusion, les dattes traitent les rhumes. En gargarisme, elles soignent les maux de gorge. (Laouni S, 2014).

I-9-Activité antimicrobienne du palmier dattier

Sur le plan ethnobotanique, les dattes sont depuis longtemps considérées avoir des aptitudes antimicrobiennes contre les microorganismes pathogènes (Abekhti, 2013). En particulier sur la croissance et la germination des spores de *Bacillus subtilis*, Cet effet inhibiteur a été comparable à celui des médicaments antifongiques connus tels que l'amphotéricine B et nystatine (Shraideh *et al.*, 1998).

D'autres paramètres peuvent également intervenir dans l'activité antibactérienne tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes reconnus par leur haute activité pharmacologique contre les maladies coronariennes et le cancer (Saba *et al.*, 2011 ; Escuredo *et al.*, 2012).

Chapitre II :

Les infections nosocomiales

Chapitre II

Les infections nosocomiales

II-1-Généralités

Les infections nosocomiales représentent aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale, étant responsable d'une lourde morbidité (**Hamza, 2010**), de mortalité et de surcoût important ; elles restent une préoccupation croissante au niveau de l'hôpital par leur impact à la fois humain et économique (**Mchich, 2002**).

Le risque de contracter une infection à l'hôpital a toujours existé et ce risque s'est accru avec l'évolution des pratiques de soin et de recrutement des patients. La pratique de soins plus efficaces mais souvent plus invasifs s'est accompagnée d'une possibilité de contamination par des microorganismes d'origine endogène ou exogène (**Astragneau, 1998 ; Zeroual, 2012**).

Une infection nosocomiale est une infection contractée dans un établissement de santé. Le terme nosocomial vient du grec *nosos* (maladie) et de *komein* (soigner) qui forment le mot *nosokomelon* (hôpital). (**Bernard et Didier, 2011**)

II-2-mode de transmission de l'infection nosocomiale

La plupart des infections nosocomiales sont secondaires à la réalisation d'un geste invasif chez le patient en créant une porte d'entrée pour les micro-organismes présents dans l'environnement proche : peau du patient, mains du personnel, matériel ou dispositif invasif. C'est ainsi que la grande majorité des infections nosocomiales sont consécutives à un geste chirurgical (incision, ouverture de la peau et d'organes habituellement stériles ou non), à la pose d'une sonde vésicale, d'un cathéter veineux, d'un cathéter artériel, d'un tube endotrachéal (**Jean et al., 2016**). Il existe quatre voies principales de pénétration des germes des infections nosocomiales. Ce sont la voie centrale, la plaie opératoire, la voie respiratoire et la voie parentérale (**Chaouki, 1995 ; Mchich, 2002**).

II-2-1-Infections d'origine endogène

Ils font partie de la flore commensale du patient (**Horan et al., 2008 ; Thibault, 2011**). C'est à dire que le malade se contamine par ses propres germes, à l'occasion d'un acte invasif et/ou en raison d'une situation médicale du patient c'est-à-dire son âge et sa pathologie, ses traitements, la qualité des soins, la présence de germes pathogènes pour

certain patients fragilisés. Les infections endogènes représentent 50 % au moins des infections nosocomiales (Faure, 2002).

II-2-2-Infections d'origine exogène

Elles sont soit des infections croisées transmises d'un malade à l'autre, soit des infections provoquées par les germes du personnel porteur, soit des infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier (Faure, 2002).

Ces deux origines peuvent être causées par:

- un manque de bonnes pratiques d'hygiène (absence de lavage des mains)
- les progrès de la médecine et de la chirurgie avec l'apparition de nouvelles techniques thérapeutiques de plus en plus agressives qui peuvent être des possibles sources d'infections (Faure, 2002).

II-3-Microorganismes responsables des infections nosocomiales

Un grand nombre d'agents infectieux (parasites, levures, bactéries, virus, prions) peuvent être responsables d'infections nosocomiales (IN). Néanmoins, certains d'entre eux sont plus fréquemment impliqués ; il est indispensable de les identifier et de connaître leur habitat préférentiel, leur mode de transmission, leur porte d'entrée dans l'organisme et les principales pathologies dont ils sont à l'origine afin d'organiser plus efficacement la prévention et la prise en charge de ces dernières (Pozzetto, 2009).

Tableau 03 : les différents microorganismes responsables des infections nosocomiales (Habzi et Benomar, 2001). in

Bactéries à Gram +	Bactéries à Gram -	Virus	Levure
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Rotavirus</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Cytomégalovirus</i>	
<i>Enterocoques</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Adénovirus</i>	
<i>Streptocoques B</i>	<i>Salmonella</i> <i>Legionella</i> <i>Campylobacter</i>	<i>Enterovirus</i>	

Tableau 04 : les caractéristiques de certaines souches bactériennes responsables des infections nosocomiales (**Pozzetto, 2009**)

Souches	Habitat Préférentiel	Mode de transmission	Porte d'entrée à l'hôpital	Principales pathologies nosocomiales
<i>Escherichia. Coli</i>	Humain (TD) Animal (TD) Environnemental (eau, aliment)	Contact indirect	Digestive Endogène	Diarrhée, Suppuration Infections urinaire et générale Bactériémie Meningite Toxi-infection, alimentaire
<i>Kiebsiella sp</i>	Humain (TD) Animal (TD) Environnemental (eau, sol aliment)	Contact indirect	Digestive Endogène Respiratoire Cutanéomuqueuse	Suppuration Infections urinaire Bactériémie Pneumopathie
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Humain (T) Environnemental (eau, sol aliment)	Contact indirect	Digestive Endogène Respiratoire Cutanéomuqueuse	Pneumopathie Infections urinaire infection de la peau et des parties molles (plaie, brûlure) Suppuration Bactériémie
<i>Staphylococcus aureus</i>	Humain (TD) Environnemental (eau, sol aliment)	Contact direct ou indirect	Digestive Endogène Cutanéomuqueuse	Infections urinaire infection de la peau (cutané)
<i>Enterococcus faecalis</i>	Humain (TD) Animal (TD)	Contact indirect	Digestive Endogène	Infections urinaire les endocardites Lépididyme
<i>Bacillus subtilis</i>	Humain (TD) Environnemental (eau, sol aliment)	Contact indirect	Digestive Endogène	Infections gastro-entérites

TD : Tube Digestive

II-4-Diagnostic

Le diagnostic est une procédure permettant de distinguer une maladie sur la base des symptômes décrits et des examens pratiqués. (Petignat, 2005).

II-4-1-Les critères de diagnostic

Le diagnostic des infections nosocomiales repose sur:

- Les signes cliniques imposent un bilan biologique.
- Les signes hématologiques, les tests d'inflammation, les anomalies de la radio Pulmonaire
- Le diagnostic d'infection sera confirmé pas les examens bactériologiques

II-4-2-procédés de diagnostic

Une infection peut être diagnostiquée directement par l'isolement de la bactérie ou de l'un de ses constituants ou d'une de ses productions, mais aussi indirectement par la mise en évidence d'une réaction immunologique spécifique contre cet agent infectieux. (Kayser et al., 2008).

Une identification positive du pathogène dans un prélèvement du patient est couplée avec un test de sensibilité aux antibiotiques «antibiogrammes» ou de E test pour définir le traitement convenable.

II-5- Traitement des infections nosocomiales

Le traitement d'une infection nosocomiale est variable selon la bactérie présente et les symptômes qu'elle provoque. La prise en charge médicale varie d'un patient à un autre. Le traitement employé est une antibiothérapie (soit un seul antibiotique soit plusieurs) .Les antibiotiques peuvent être produits naturellement à l'aide de microorganismes ou synthétiquement dans les laboratoires (Chaudhary et al., 2004 ; Meyer et al., 2004) et peuvent être classés selon l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action (Yala et al., 2004).

La difficulté des traitements liée à la multi-résistance bactérienne (Dubos, 2012) vue l'utilisation extensive et fréquemment abusive des antibiotiques couplée à un déséquilibre dans l'hygiène hospitalière, permet à ces infections une évolution fulgurante traduisant ainsi plusieurs épidémies (Amara et Khaldi, 2015).

II-6-La résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne se définit comme la capacité de continuer à croître ou à survivre en présence de l'antibiotique. Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise

II -6-1-Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est essentiellement due à la présence de gènes chromosomiques ; elle est donc commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle peut être due à des particularités structurales s'opposant à l'action de l'antibiotique sur sa cible comme la présence d'une membrane externe chez les bactéries à Gram négatif les rendant naturellement résistantes aux antibiotiques de poids moléculaire élevé comme les glycopeptides. Elle peut être aussi due à des particularités métaboliques spécifiques : le bacille de la tuberculose par exemple n'est sensible qu'à un nombre restreint d'antibiotiques en raison de son métabolisme original. La résistance naturelle peut enfin être médiée par l'expression constitutive ou induite d'une enzyme d'inactivation ou par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis à vis de l'antibiotique. (**Redjem R ; Meghezzi Y , 2017**)

II -6- 2 -Résistance acquise

Ce terme est utilisé pour désigner le résultat d'un processus permettant à des bactéries d'une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques. L'acquisition de ces résistances est déterminée par des modifications génétiques consécutives à des mutations ponctuelles ou à l'acquisition de gènes de résistance exogènes par les phénomènes de conjugaison, de transformation ou de Transduction. (**Redjem R ; Meghezzi Y ,2017**)

Partie II: étude expérimentale

Chapitre III : **matériel et** **méthodes**

Chapitre III Matériel et méthodes

III-1-matériel

III-1-1 -Matériel végétal

Afin de choisir les variétés les plus répandues des dattes au niveau de la wilaya de Laghouat (el Assafia), on a procédé à un recensement des variétés à l'aide de personnel parmi les plus anciens des agriculteurs de la région Mr MOULAY et Mr BTAIMI. Le choix de ces deux variétés se justifie par leurs abondances au niveau local.

a- échantillonnage

Le matériel végétal utilisé au cours de cette étude a été récolté de la région d'el Assafia située au nord-est de la wilaya de Laghouat ($33^{\circ}50'00''$ nord, $2^{\circ}59'00''$ sud) (figure 4) les feuilles de la variété Deglet Nour et Tadala ont été récoltées la journée de 10 février 2019.

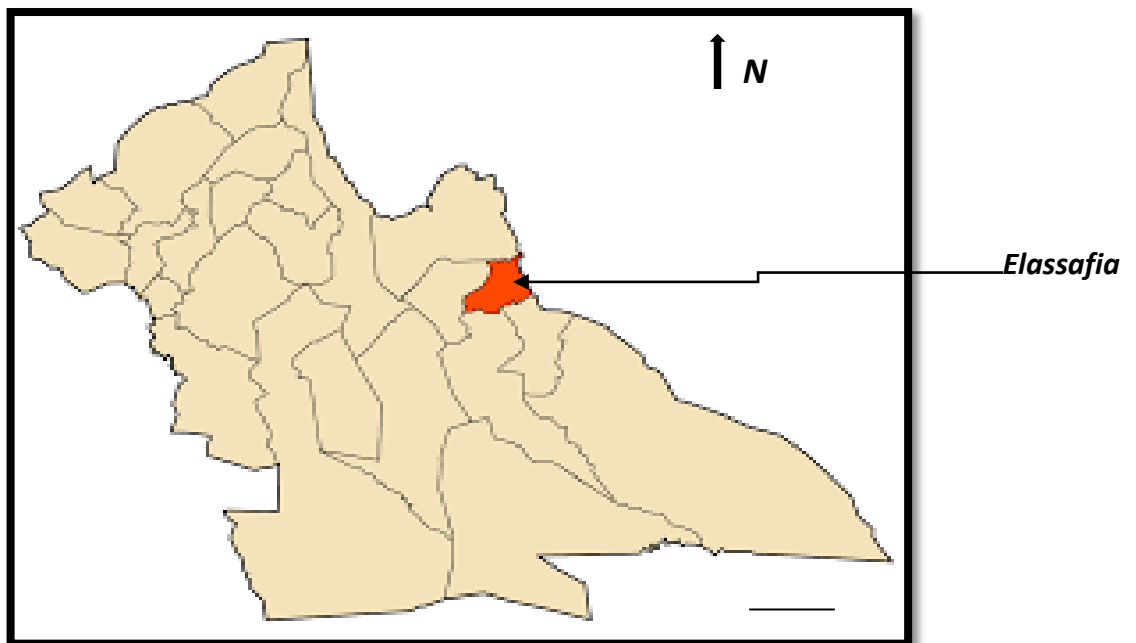


Figure 04: localisation de la commune d'el Assafia dans la wilaya de laghouat



Figure 05 : Palmier dattiers (*Phoenix dactylifera* L) dans son habitat naturel : région d'el Assafia -Laghouat- (A : nouvelle palmeraie B : ancienne palmeraie)

b – séchage :

Les échantillons frais ont été lavés individuellement sous l'eau courante du robinet pour enlever la terre, les particules et autres saletés. Les feuilles ont été séchées dans un endroit sec à l'abri du soleil et de la lumière à température ambiante pendant 15 jours.



Figure 06: les feuilles des variétés récoltées après séchage

c-broyage :

Après le séchage les feuilles du palmier dattiers ont été découpées en petites fragments puis transformées en poudre fine grâce à un broyeur électrique (COBRA CB-MAC- 180) ensuite tamisées à l'aide d'un tamiseur (500 μm).

Les fractions obtenues sont conservées dans des boîtes en verre bien identifiées pour chaque variété pour les préparations ultérieures.



Figure 07 : les différentes fractions obtenues après broyage

III-1-2-produits utilisés

Tableau 05 : les produits utilisés durant ce travail

Produits chimiques	Matériel de laboratoire	
<ul style="list-style-type: none"> • DMSO : diméthylsulfoxyde • Méthanol • Fuschine • Lugol • Ethanol • Violet de gentiane 	<ul style="list-style-type: none"> • Spectrophotomètre • Etuve • Balance de précision • Anse de platine • Ecouvillon stérile • Tube à essai • Pince stérilisée- • Réfrigérateur • Boîtes de pétrie 	<ul style="list-style-type: none"> • Entonnoir • Cristalliseur • Erlenmeyer • Agitateur • Autoclave • Plaque chauffante • Micropipette • Papier Filtre

III-2-méthodes

III-2-1-préparation des extraits

a-Extrait méthanolique

10 g des feuilles de palmier dattier broyées de chaque variété ont été pesées et ajoutées au 100 ml de méthanol et mise sous agitation 150 tpm (rotation / min) pendant 48h a temperature ambiante (32 C) (Hajira A. Qadoos et al.,2017)

b-Extrait aqueux

10 g des feuilles de palmier dattier broyées de chaque variété ont été pesées et mise sous agitation dans 100 ml d'eau distillée avec une vitesse de 150 tpm (rotation / min) pendant 48h (Hajira A. Qadoos et al.,2017)

Chaque mélange a été filtré à l'aide d'un papier filtre puis les filtrats obtenus ont été versés dans des cristallisoirs jusqu'à l'évaporation du solvant. L'extrait brut a été récupéré et stocké dans des boîtes stériles dans un réfrigérateur jusqu'à l'utilisation.

III-2-2-Détermination de l'activité antibactérienne des extraits

Dans cette étude la détermination de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et méthanolique de quatre variétés contre certaines souches responsables des infections nosocomiales a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé

III- 2-2-1-Souches bactériennes utilisées

Les souches bactériennes utilisées lors de cette étude ont été isolées d'un milieu hospitalier et identifiées lors d'une étude précédente. Il s'agit de 3 souches Gram positif et 3 autres Gram négatif

Tableau 06 : les différentes souches bactériennes utilisées lors de cette étude d'origine hospitalier

Bactéries a Gram positif	Bactéries a Gram négatif
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 10876	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29212	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC4350

III-2-2-2-Vérification de la pureté des souches

La vérification de la pureté des souches est basée sur :

- l'observation macroscopique des colonies (couleur, aspect et diamètre)
- l'observation microscopique des bactéries (mobilité, forme et le mode de réarrangement)
- la coloration de Gram.
- le test de la catalase et d'oxydase.

Les six souches conservées sur G.N incliné ont été repiquées sur des milieux sélectifs dans le but d'avoir une culture pure.

- *Staphylococcus aureus* → Chapman
- *Bacillus subtilis* → Gélose nutritif
- *Enterococcus faecalis* → Roth (bouillon)
- *Pseudomonas aeruginosa* → King A /King B
- *Escherichia coli* → MacConkey
- *Klebsiella pneumoniae* → MacConkey

a-Test catalase

Sur une lame on mélange une goutte d'eau physiologie avec quelques colonies de la bactérie à tester et on ajoute une goutte d'eau oxygénée. On observe un dégagement gazeux pour les catalases positifs et on observe rien pour les catalase négatifs.

b-Test oxydase

Sur une lame on dépose un disque d'oxydase et avec une pipette pasteur on prélève quelques colonies et on les dépose à la surface du disque avec un frottement léger. La lecture se fait selon le changement de couleur, présence de changement de couleur oxydase positifs, absence de changement de couleur oxydase négatifs.

c- Examen à l'état frais

Pour chaque souche un examen à l'état frais a été réalisé pour observer s'ils s'agit des bactéries mobiles ou immobiles.

Des bactéries sont considérées comme mobiles lorsque des trajets très différents sont observés (déplacement dans toutes les directions). Une bactérie immobile est animée de mouvements d'agitation normaux dits mouvements browniens.

d-Coloration de Gram

La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Elle doit être parfaitement maîtrisée car c'est le point de départ du choix des examens complémentaires à effectuer, des milieux à ensemencer etc....

Au terme du processus de coloration, les bactéries dites « Gram Négatives » apparaissent roses tandis que les bactéries dites « Gram Positives » sont colorées en violet.

III-2- 2-3 préparations de la suspension bactérienne standard

A partir d'une culture jeune et pure des bactéries sur les milieux sélectifs ayant au maximum 24h, on racle à l'aide d'une pipette pasteur scellée quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Ensuite, on décharge la pipette pasteur dans 10 ml d'eau physiologique stérile et on homogénéise la suspension bactérienne ; son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O égale à 0,08 à 0,10, lue à la longueur d'onde de 625 nm qui correspond à 10^8 UFC/ml (Gachkar et al., 2007) . Cette suspension est ensuite ensemencée sur le milieu Muller Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile.

III-2-2-4-Méthode de diffusion en milieu gélosé: Méthode des disques

L'activité antibactérienne des différentes concentrations a été étudiée pour chaque souche à partir d'une culture de 18 heures.

Les extraits sont reconstitués dans les solvants d'extraction et stérilisés par passage dans un filtre millipore 45 µm.

Des disques de 6 mm de papier Whatman (No.1) ont été préparés et stérilisés chaque disque a été rempli avec 50 µl d'extrait des concentrations différentes 100-50 - 25mg/ml Donc, chaque disque pié 5 - 2.5 et 1.25 mg, respectivement. Ces disques saturés ont été placés à la surface des boîtes Pétri inoculées, la gentamicine (120 µg / disque) a été utilisée comme contrôle positif et les disques de papier stériles saturés avec méthanol ont été utilisés comme contrôle négatif.

L'extrait aqueux ainsi obtenu a été reconstitué dans le DMSO à 10 % de façon à obtenir les concentrations suivantes : 125- 100- 50 mg /ml, donc chaque disque piégé 12.5 / 5 et 2.5mg respectivement. Les disques saturés ont été placés à la surface des boîtes

Petri inoculé Le ciprofloxacine a été utilisé comme contrôle positif, tandis que les disques de papier stériles saturés avec le DMSO à 10 % comme contrôle négatif.

Les boîtes ensemencées étaient alors incubées pendant 24 h à 37 °C. La croissance bactérienne était déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition en mm avec une règle transparente.

III-2-2-5- Méthode de contact direct: détermination de la CMI

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de façon générale est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24 heures (Moroh et al., 2008).

Pour la détermination de la CMI, on utilise les deux extraits des feuilles du palmier dattier les plus efficaces (DN-A et TD-N) contre les deux souches les plus sensibles (*Staphylococcus aureus* - *Bacillus subtilis*). Pour cela on utilise une microplaque stérile de 96 puits (8 lignes* 12 colonnes).

- La concentration de départ est 120 mg /ml
- Dans les cupules des colonnes 1 à 8, on introduit, à l'aide d'une micropipette à embout stérile, 100 µl de bouillon Mueller-Hinton.
- Introduire 100 µl de l'extrait végétal dans le premier puits.
- Reporter de puits en puits, de 1 à 8 à l'aide d'une micropipette de 100 µl. Nous
 - obtenons des dilutions sériées (facteur de dilution 1/2).
- Redistribuer 100 µl de l'inoculum bactérien dans les puits déjà inoculés.
- Les concentrations finales décroissantes ainsi obtenues sont comme suit : 30 – 15 - 07.5 – 03.75 - 01.87 – 0.9 - 0.45 – 0.22mg / ml
- La microplaque est couverte est incubée à 37 °C pendant 24h. La lecture est effectuée à l'œil nu. La CMI est la plus faible concentration de l'extrait testé dans laquelle aucune croissance n'est observée. (CaCF.M.2008)

Chapitre IV :

Résultats et

Discussion

IV-1-Résultats de l'extraction

Après la récupération des extraits de chaque variété, l'extrait brut a été pesé puis le rendement a été calculé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R (\%) = (PE/PV) * 100$$

PE : poids de l'extrait brut (g).

PV : poids de la poudre végétale (g).

R : le rendement

Tableau 07: Le rendement obtenu de l'extrait aqueux

	Poudre Végétale(g)	Extrait (g)	R (%)
TD A	10	1.5	15
TD N	10	2.33	23.3
DN A	10	1	10
DN N	10	1.1	11

Tableau 08: le rendement obtenu de l'extrait méthanolique

	Poudre Végétale(g)	Extrait (g)	R (%)
TD A	10	1.1	11
TD N	10	1	10
DN A	10	1.4	14
DN N	10	1.33	13.3

Le rendement d'extraction (l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant) a été déterminé par rapport à 10 g de matière végétale (broyat). C'est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant et la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale

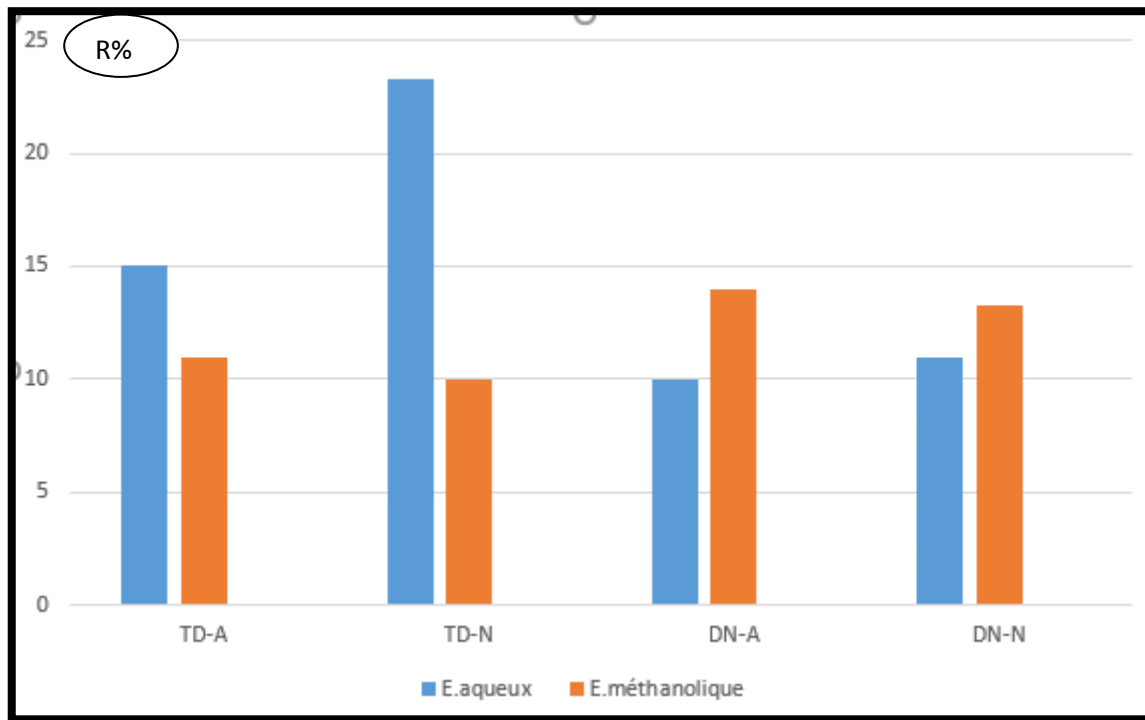


Figure 08: le rendement des extraits méthanoliques et aqueux des feuilles des quatre variétés utilisées

IV-2 Discussion

Pour la variété T.D l'extraction par l'eau a eu un rendement plus élevée que celle par le méthanol tandis que pour la deuxième variété (DN) l'extrait méthanolique est plus important que l'extrait aqueux. (Figure 8)

Ce rendement dépend de plusieurs paramètres tels que : la période de récolte de la plante, l'âge de la plante, la procédure de séchage, le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (Eloff, 1998 ; Pinelo, 2005; Sigano et al., 2007; Badiaga, 2011 ; Quy DiemDo et al., 2014). Ces paramètres sont susceptibles d'affecter l'activité antibactérienne des extraits.

IV-3-Vérification de la pureté des souches

Les tests de confirmation utilisés lors de cette étude ont confirmé la pureté des souches bactériennes testées.(tableau 09)

Ces tests sont un passage obligatoire pour confirmer au moins l'identification préalable de ces souches.

Tableau 09 : Résultats des tests de confirmation des souches utilisées

	Test catalase	Test oxydase	Coloration de Gram et la forme	Examen à l'état frais
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-	Grappe en raisin +	Immobile
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	Bacille +	Mobile
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	Cocci en chaînette +	Immobile
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	Bacille -	Mobile
<i>Escherichia coli</i>	+	-	Coccobacille -	Mobile
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	Batonnet -	Immobile

IV-4-Résultats de l'activité antibactérienne

La présente étude vise à évaluer l'activité antibactérienne des différents extraits utilisés. L'aromatogramme a révélé que l'extrait méthanolique testé avait une bonne activité (tableau 10) alors que l'extrait aqueux était presque inactif sur toutes les espèces bactériennes testées en particulier sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (tableau 11)

la variété TD- A montre des zones d'inhibitions entre 11- 13 mm contre les souches *Staphylococcus aureus* *Bacillus subtilis* *Enterococcus faecalis*. cela est similaire aux études effectuées par (Al-djahan,2012) qui a enregistré une zone d'inhibition de 9-11 mm pour *S.aureus*.

Les résultats montrent que les extraits méthanoliques de la variété DN- A a différentes concentrations ont présenté des diamètres d'inhibition compris entre 7 et 15 mm contre les souches *Staphylococcus aureus* *Bacillus subtilis* *Enterococcus faecalis* (figure 10).

Pour les extraits qui ont présenté un effet inhibiteur, le diamètre de la zone d'inhibition augmente avec la concentration pour atteindre un diamètre de 16 mm à une concentration de 5mg/disque contre *B.subtilis*.

Bacillus subtilis était fortement sensible à l'extrait de feuilles de cultivars de palmier dattier en particulier l'extrait méthanolique de la variété TD- N suivi par *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*, respectivement (figure11).

De l'autre côté en ce qui concerne *Pseudomonas airegenosa*, bactérie à Gram négatif, n'a montré aucune sensibilité à tous les extraits, alors que *Escherichia coli* et *Klebisella pneomonie* a révélé un certain degré de susceptibilité contre DN –A et TD-N

Durant cet étude le paramètre «concentration » n'a pas un grand impact dans la détermination de l'activité antibactérienne des extraits sauf pour *B.subtilis* ou on a observé que l'effet inhibiteur augmente avec la concentration de l'extrait dans le disque pour atteindre une zone d'inhibition de 16 mm a une concentration de 5mg/disque (TD-N).

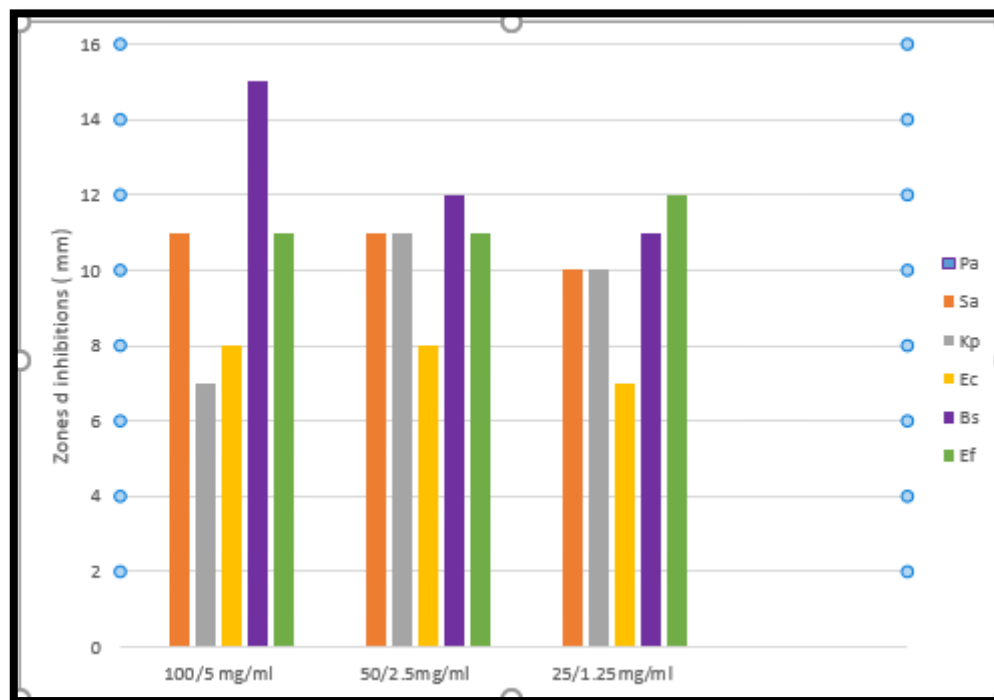


Figure 09 : Zones d'inhibition (en mm) des six souches bactériennes testées en fonction de la concentrations d'extraits méthanoliques varié éDN-A

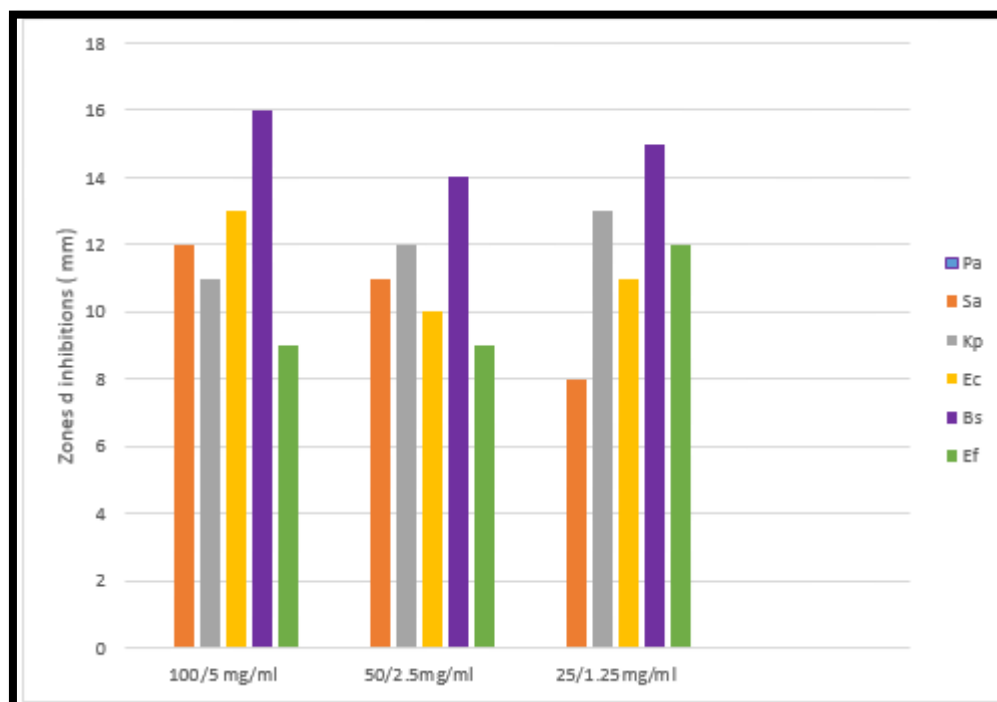


Figure10 : Zones d'inhibition (mm) des six souches bactériennes testées en fonction de la concentration d'extraits méthanoliques varié éTD-N

Tableau 10 : Résultats de l'activité antibactérienne (mm) des extraits méthanoliques des feuilles contre les six souches

Solution a tester (mg/ml)		DN-A			DN-N			TD-A			TD-N			
		100	50	25	100	50	25	100	50	25	100	50	25	
Disque mg/ml	Control-	Control+	5	2,5	1,25	5	2,5	1,25	5	2,5	1,25	5	2,5	1,25
Pa	-	42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ec	-	45	8	8	7	10	-	-	-	-	-	12	11	8
Kp	-	40	7	11	10	-	-	-	-	9	-	11	12	13
Sa	-	48	11	11	10	-	-	-	10	9	7	13	10	11
Bs	-	44	15	12	11	-	-	-	9	9	7	16	15	14
Ef	-	50	11	11	10	-	-	-	-	-	-	9	9	12

Tableau 11 : Résultats de l'activité antibactérienne (en mm) des extraits aqueux des feuilles contre les six souches

Solution a tester (mg/ml)		DN -A			DN- N			TD -A			TD-N			
		125	100	50	125	100	50	125	100	50	125	100	50	
Disque mg/m	Control-	Control+	12,5	5	2,5	12,5	5	2,5	12,5	5	2,5	12,5	5	2,5
Pa	0	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ec	0	27	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-
Kp	0	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sa	0	31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bs	0	30	-	-	-	-	-	-	14	13	10	9	8	-
Ef	0	29	-	-	-	-	-	-	15	11	-	10	9	7

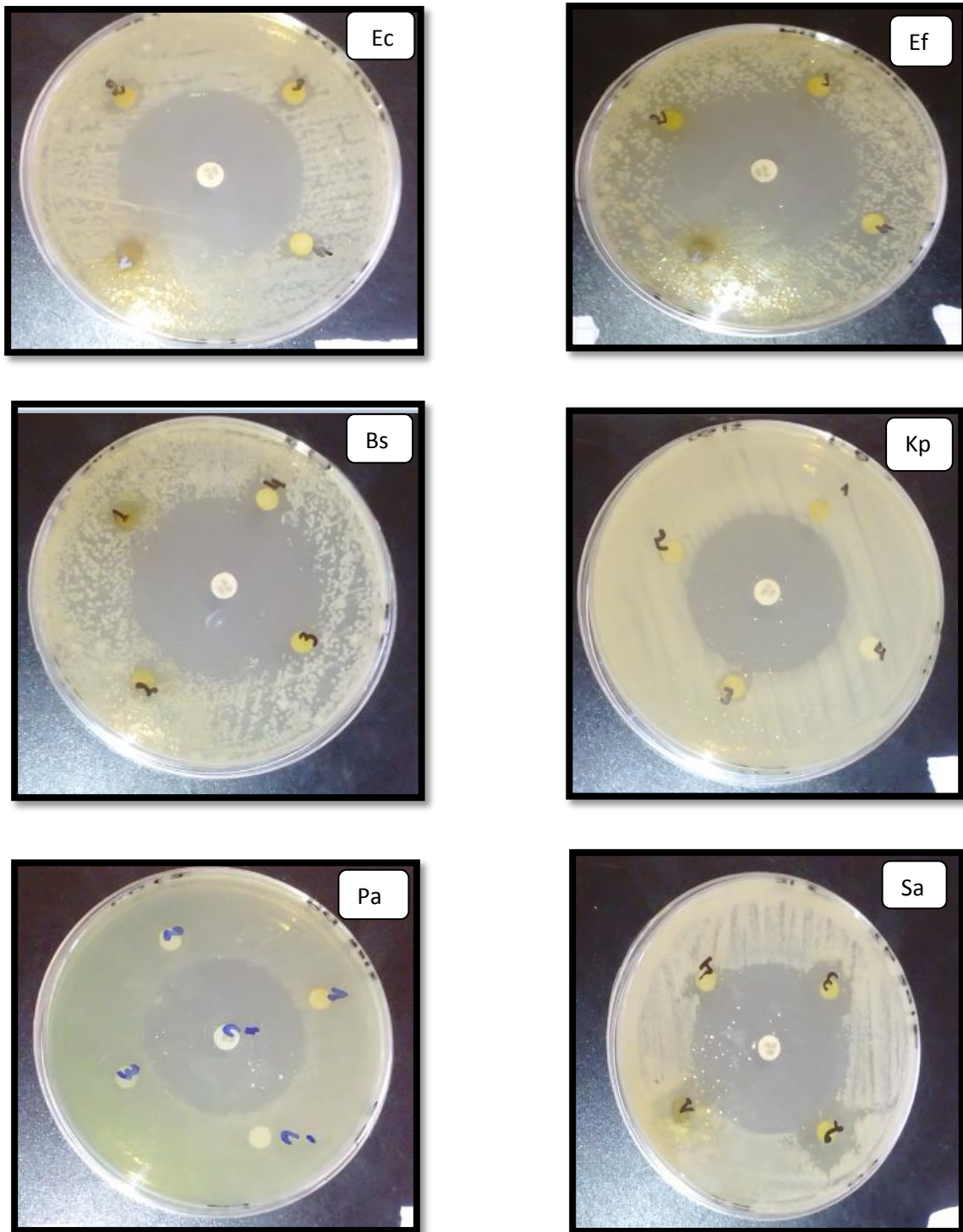


Figure 11 : activité antibactérienne des extraits méthanolique de la variété éDN-A sur six souches utilisées avec différentes concentrations

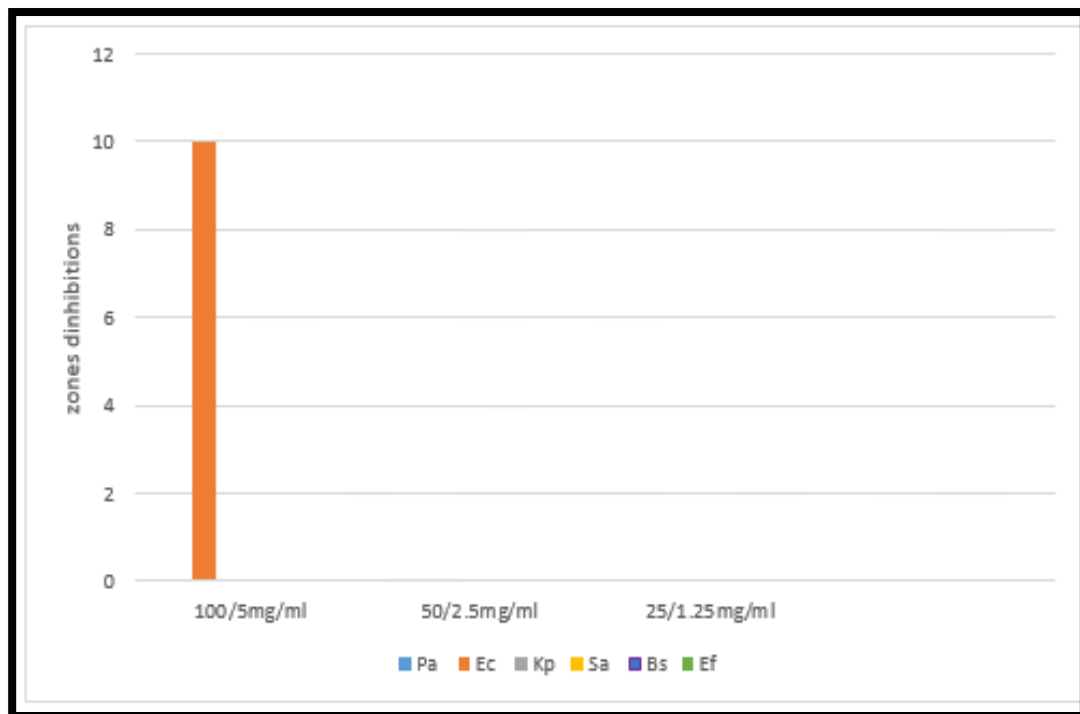


Figure 12 : Zones d'inhibition (en mm) des six souches bactériennes testées en fonction de la concentration des extraits méthanoliques variés EDN-N

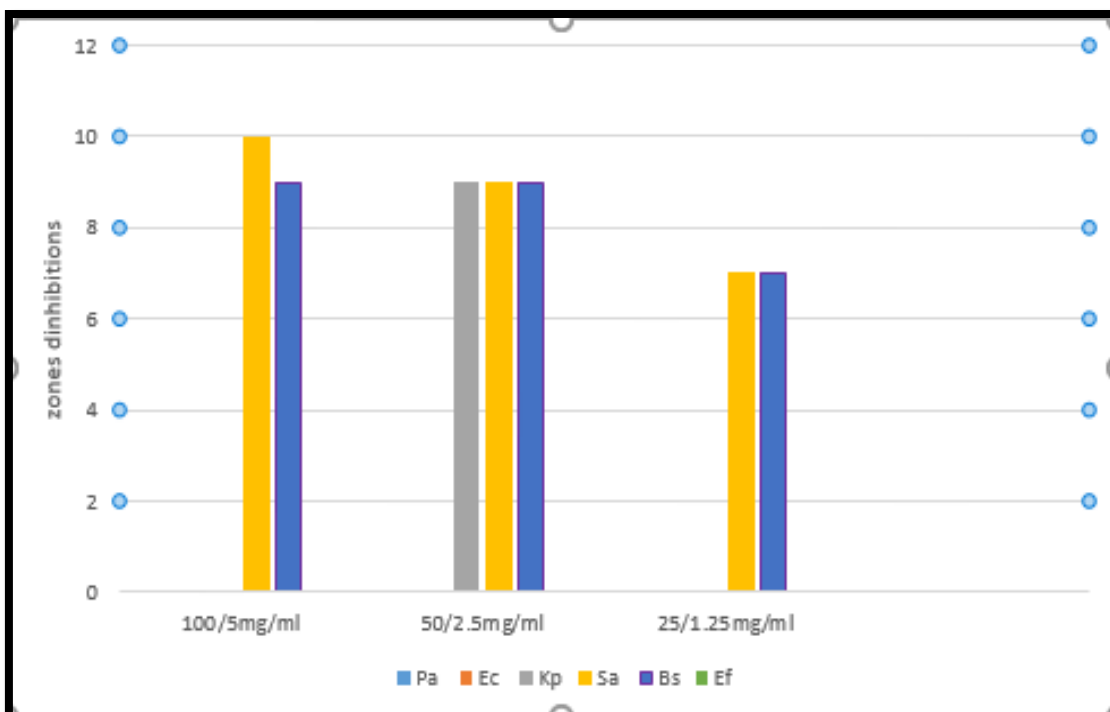


Figure 13 : : Zones d'inhibition (en mm) des six souches bactériennes testées en fonction de la concentration des extraits méthanoliques variés TD-A

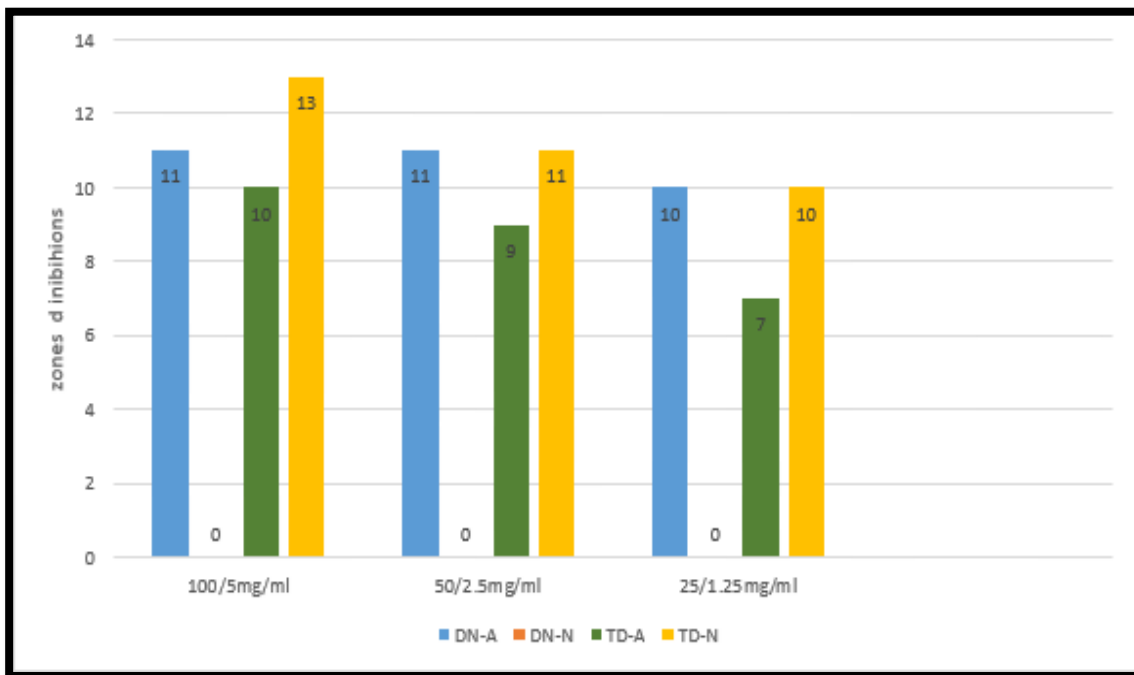


Figure 14 : Zones d'inhibition (mm) de la souche *S aureus* en fonction de la concentration des extraits méthanoliques

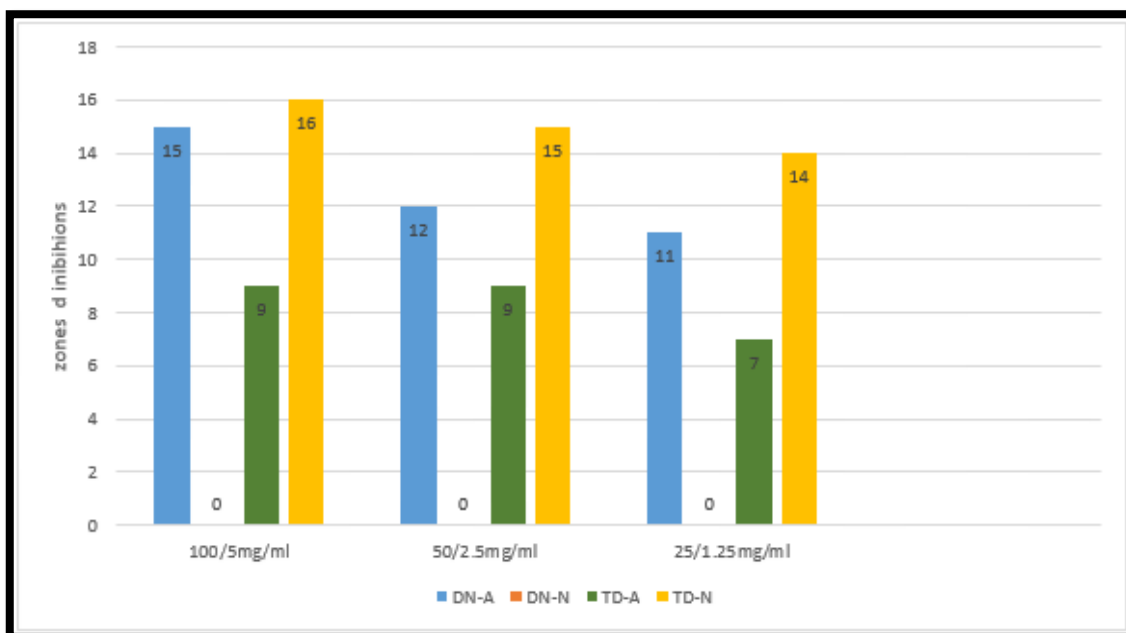


Figure 15 : Zones d'inhibition (mm) de la souche *Bacillus subtilis* en fonction de la concentration des extraits méthanoliques

IV-5-Discussion

Les antibiotiques utilisés comme contrôle positif durant cette étude ont montré un effet inhibiteur plus puissant que celui des extraits des feuilles du palmier dattier testés. Cela est en parfaite concordance avec les études de **Sani, et al., 2017**) qui ont utilisé la ciprofloxacine comme contrôle positif.

Généralement Les Gram-positifs étaient les bactéries les plus sensibles vers les extraits des feuilles de palmier dattier, tandis que les gram-négatives ont révélé moins ou absence de sensibilité antibactérienne nos résultats sont en accord, dans une certaine mesure, avec cela rapporté par (**Abdallah EM et al., 2017**) et (**Hajira A. Qadoos et al., 2017**)

Concernant l'extrait des feuilles de la variété Deglet Nour, nous avons trouvé que toutes les souches présentent une certaine sensibilité vis-à-vis l'extrait avec le plus grand effet observé contre *Bacillus subtilis* (**Aouni, 2014**)

Les extraits méthanoliques des feuilles du palmier dattier ont montré un bon effet inhibiteur contre les bactéries à Gram positif. Ces résultats sont en ligne avec les études de (**Jaroszynska, 2003**) qui a constaté que la plus grande extraction se fait par le méthanol

L'extrait méthanolique des feuilles du palmier dattiers a montré l'effet inhibiteur le plus important contre *B.subtilis* et *S.aureus* avec une Z.I de 15 mm. (**Hajira A. Qadoos et al., 2017**)

L'activité antibactérienne des extraits de feuilles du palmiers dattiers est due probablement à la présence de composés phénoliques ce qui n'est pas le cas pour les dattes qui sont riches en carbohydrates (**Hajira A. Qadoos et al., 2017**)

Cette activité peut être attribuée à la présence de certains composés phytochimiques bioactives tels que les flavonoïdes qui constituent un large groupe de composants naturels des plantes dont plus d'une centaine d'études ont montré leurs effets antimicrobiens comparables à celui des antibiotiques synthétiques. (**Farhadi F et al. 2019**). En effet des études de (**Mujahid et al., 2017**) ont montré que le criblage phytochimique des extraits de feuilles du palmier dattier a révélé la présence des alcaloïdes, des stéroïdes, des phénols et des tanins qui peuvent être responsables de l'activité antimicrobienne importante du palmier dattier. Ces composés ont la capacité de former des pores dans les membranes des bactéries ce qui peut expliquer cette activité (**Sani, et al., 2017**)

Le ciprofloxacine a donné des zones d'inhibition de 30 mm 27 mm 35 mm 31 mm 30 mm 29 mm sur les souches *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* *Bacillus subtilis* et *Enterococcus faecalis* respectivement

La gentamicine a montré des effets d'inhibitions plus actifs que le ciprofloxacine avec des diamètres d'inhibition de 42 mm 45 mm 40 mm 45 mm 44 mm 50 mm contre les souches *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* *Bacillus subtilis* *Enterococcus faecalis* respectivement.

Les différentes zones d'inhibition obtenues lors de cette étude sont inférieures à celles obtenues par les antibiotiques (contrôle positif) et ceci apparaît logique lorsqu'on sait que l'antibiotique est sous sa forme pure contrairement aux extraits utilisés qui sont sous une forme brute constituée d'un mélange de composés phytochimiques.

Les résultats de notre étude ont mis en évidence une activité antimicrobienne des extraits des feuilles du palmier dattier contre divers agents pathogènes responsables des infections nosocomiales ce qui pourrait être dû à l'action sélective ou synergique de divers produits chimiques présents dans le palmier dattier. De plus, la présence d'une activité antimicrobienne dans une plante à dattes entière peut être considérée comme un outil de défense des plantes contre un ensemble de microorganismes. Cela semble important pour un meilleur rendement des dattes d'immense valeur commerciale (**Kahkashan P et al., 2011**).

IV-6-Résultats de la concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice est déterminée par la méthode de dilution sur milieu liquide, Les deux extraits de *Phoenix dactylifera* TD-N /DN-A ont montré des activités antibactériennes vis-à-vis des souches testées. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 11.

Tableau 12 : Résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) mg/ml.

	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
TD- N	1.87 mg/ml	03.75 mg/ml
DN- A	0.9 mg/ml	1.87 mg/ml

Les valeurs de CMI obtenus lors de cet étude sont beaucoup plus inférieure à ceux obtenues par (**Doughari et Manzara, 2008**) qui ont trouvé une CMI de 18.88 mg/ml de l'extrait méthanolique des feuilles sur *S.aureus*.

Les résultats de la détermination de la C.M.I ont montré une certaine concordance avec ceux obtenu par (**Sani et al ., 2017**) qui ont confirmé le pouvoir antibactérien des extraits des feuilles du palmiers dattier sur quelques entérobactéries par des faibles valeurs de CMI entre 5 et 10 mg/ml.

Les résultats de la CMI des extraits méthanoliques sur *S.aureus* ont montré des valeurs beaucoup plus faible (1.87 mg/ml) par rapport a ceux obtenues par (**Hajira A. Qadoos ,2017**) dont elles sont de l'ordre de 100mg/ml alors que *B.subtilis* avait atteint une valeur de CMI de 250 mg/ml.

Ces mêmes résultats confirment que la souche *E.coli* et *P.aeruginosa* étaient résistantes à l'effet inhibiteur des extraits de feuilles des palmiers dattier même en augmentant la concentration.

Conclusion

Conclusion

Les chercheurs ont tourné le regard vers la médecine traditionnelle, donc plusieurs études ont été menées sur les composés de ces plantes et leurs activités notamment l'activité antibactérienne.

Différentes parties du palmier dattier ont été abondamment étudiés, mais on sait peu sur le potentiel bioactif de leurs feuilles. Cependant l'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'activité antibactérienne des feuilles de 4 variétés du palmier dattier cultivés dans la région de Laghouat en faisant une comparaison entre les anciennes et les nouvelles variétés et une autre avec des antibiotiques synthétiques .

Les résultats obtenus se présentent comme suit :

Dans un premier temps nous avons procédé a des extractions des substances actives en utilisant deux solvants de polarité différente l'eau et le méthanol .Les résultats ont montré que pour la variété T.D le rendement de l'extraction par l'eau est plus important que celui obtenu par le méthanol ce qui est l'inverse pour la variété D.N

Deuxièmement l'étude de l'activité antibactérienne des extraits obtenus contre certaines souches responsables des infections nosocomiales par la méthode de diffusion en milieu gélosé a révélé un effet inhibiteur important de l'extrait méthanolique des variétés T.D.N et D.N.A contre les bactéries GRAM+ par contre l'effet a été très limité contre les GRAM- en particulier *Psuedomonas aurigonosa*.

L'extrait aqueux obtenu lors de cette étude n'a montré aucune activité sauf pour la variété T.D sur *B.subtilis* et *E.faecalis* uniquement.

L'activité montrée par certains extraits de feuilles était presque la même malgré l'augmentation de la concentration des extraits en contact. En outre la totalité des souches testées ont été sensibles aux antibiotiques utilisés (Ciprofloxacine et Gentamycine) avec des zones d'inhibition très importants allant jusqu'à 50 mm.

En dernier lieu et pour confirmer cette activité on a utilisé la technique de contact direct pour déterminer la concentration minimale inhibitrice dont les valeurs allant de 01.87 a 03.75 mg/ml des extraits efficaces.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude in

vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antimicrobienne de cette plante.

Bien que préliminaire cette étude a permis de confirmer que les feuilles du palmier dattier constituent une ressource très intéressante à étudier et à valoriser dans différents domaines, leur place de la lutte biologique semble prometteuse c'est pourquoi il serait utile de continuer dans cette voie en testant leurs activité biologique des autres espèces algériennes en présence d'autres microorganismes.

Ces résultats ouvrent la voie à de nombreuses études plus approfondie dont l'objectif final sera de comprendre le mode d'action sur les micro-organismes.

Il serait intéressant aussi de :

- ✓ Identifier la structure des composés actifs présents dans les feuilles du palmier dattier, en utilisant un criblage phytochimique et des analyses fines : HPLC, SM, RMN.
- ✓ Rechercher d'autres activités biologiques de cette plante telles que l'activité antalgique, hémostatique, anti-inflammatoire, antioxydante, ...etc.

Résumé

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) est l'une des plus anciennes plantes cultivées qui constitue un potentiel bioactif mal exploité ce pendant le présent travail apporte une contribution à la valorisation des ressources végétales de la région de Laghouat par une recherche des activités antibactériennes des feuilles de cette plante. Les extraits bruts des feuilles de quatre variétés (DN-A et DN-N / TD-A et TD-N) de *Phoenix dactylifera* ont été testés pour leur activité antibactérienne contre six souches bactériennes responsables des infections nosocomiales qui représentent un vrai problème de santé publique. Les extraits au méthanol ont montré un bon effet inhibiteur contre *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* avec des zones d'inhibition de (9–16 mm) et (7–12 mm) respectivement tandis que l'extrait aqueux n'a montré aucun effet contre les souches testées à l'exception d'*Enterococcus faecalis* avec un ZI (7- 15 mm). Les résultats montrent que les extraits méthanoliques de DN-A et TD-N sont les plus efficaces contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Enterococcus faecalis* avec Z.I de (7 -15 mm). Le test de détermination de la CMI a confirmé l'effet inhibiteur des extraits méthanoliques contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* de la variété TD-N avec des valeurs de :03.75 - 1.87 mg/ml et 1.87- 0.9 mg/ml concernant la variété DN-A.

Les mots clés : palmier dattier ; extrait des feuilles ; infections nosocomiales ; activité antibactérienne ; eau ; méthanol .

Abstract

The date palm (*Phoenix dactylifera*) is one of the oldest cultivated plants that represents a poorly exploited bioactive potential. The present work contributes in valorization of plant resources in the Laghouat region by researching the antibacterial activities of the leaves of this plant. The raw leaf extracts of four varieties (DN-A and DN-N / TD-A and TD-N) of *Phoenix dactylifera* were tested for their antibacterial activity against six bacterial strains responsible for nosocomial infections that represent a real health problem public. The methanol extracts showed a good inhibitory effect against *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* with inhibition zones of (9-16 mm) and (7-12 mm) respectively while the aqueous extract showed no effect against strains tested with the exception of *Enterococcus faecalis* has a ZI (7-15 mm). The results show that the methanolic extracts of DN-A and TD-N are the most effective against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecalis* with Z.I of (7-15 mm). The MIC test confirmed the inhibitory effect of methanolic extracts against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* of the variety TD-N 03.75 and 01.87 mg / ml and 01.87 / 0.9 mg / ml for the DN-A variety.

The key words : date palm ; leaf extracts ; nosocomial infections ; antibacterial activity ; water ; methanol

ملخص

يعد نخيل التمر (*Phoenix dactylifera*) واحداً من أقدم النباتات المزروعة التي تحتوي على جزيئات حيوية غير مستغلة. تعد هذه الدراسة مساهمة بسيطة في تبيين الموارد النباتية في منطقة الأغواط من خلال البحث عن نشاط المضاد للبكتيريا للأوراق هذا النبات. تم اختبار نشاط مستخلصات الأوراق الخام لأربعة أصناف (DN-A و DN-N / TD-A و TD-N) ضد ستة سلالات بكتيرية مسؤولة عن العدوى داخل المستشفيات التي تمثل مشكلة حقيقية للصحة العمومية حيث أظهرت المستخلصات مع الكحول تأثيراً مثبتاً جيداً ضد *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* مع مناطق تثبيط (9-16 ملم) و (7-12 ملم) على التوالي في حين أن المستخلص مع الماء لم يظهر أي تأثير ضد سلالات التي تم اختبارها باستثناء *Enterococcus faecalis* على التوالي في حين أن المستخلصات الميثانول من DN-A و TD-N هي الأكثر فعالية ضد *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* مع Z.I من (7-15 ملم). وأخيراً أكد اختبار MIC التأثير المثبط لمستخلصات الميثانول ضد السلالات سابقة الذكر مع قيم تتراوح بين الصنف TD-N و03.75 و01.87 مغ / مل / و 0.9-01.87 ملغ / مل لصنف DN-A.

الكلمات المفتاحية : نخيل التمر ; مستخلصات الأوراق ; عدوى المستشفيات ; النشاط المضاد للبكتيريا ; الماء ; الكحول

Références bibliographiques

1. **Abekhti A. (2013).** Evaluation et Valorisation du procédé traditionnel de conservation des dattes
2. **Ahmed, A.** Phytochemical and Therapeutic Evaluation of Date (*Phoenix dactylifera*). A Review. *Journal of Pharmacy and Alternative Medicine*, (2016), Vol.9, 10-17.
3. **Ahmed, A.** Phytochemical and Therapeutic Evaluation of Date (*Phoenix dactylifera*). A Review. *Journal of Pharmacy and Alternative M édicine*, (2016), Vol.9, 10-17.
4. **Aiyegoro, O., Adewusi, A., Oyedemi, S., Akinpelu, D., Okoh, IA.** Interactions of antibiotics and methanolic crude extracts of *Azelia africana* (Smith.) against drug resistance bacterial isolates. *International Journal of Molecular Sciences*, (2011), 12 : 4477- 4487.
5. **Amorsi G. 1975.** Le palmier dattier en Alg érie, Ed, Tlemcen, 131p.
6. **Bahmanpour, S., Panjeh Shahin, M.R., Talaei, T. et al.** Effect of *Phoenix dactylifera* pollen on sperm parameters and reproductive system of adult rats. *Iranian Journal of Medical Sciences*, (2006), 31 : 4.
7. **Baliga, M.S., Baliga, B.R.V., Kandathil, S.M., Bhat, H.P., Vayalil, P.K.** A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Research International*, (2011), 44: 1812–1822.
8. **Biglari, F., AlKarkhi, AFM. Azhar, ME.** Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chem.*, (2008), 107 : 1636-1641.
9. **Biyiti LF, Meko'o DJL, Tamzc V, Amvam Zollo PH.** Recherche de l'Activité Antibact érienne de Quatre Plantes M édicinales Camerounaises. *Pharmaceutical Mediterranean traditional african* 2004; 13: 11-20.
10. **Boubaker J , Sghaier MB , Skandrani I, Ghedira K, Chekir-Ghedira L.** Isorhamnetin 3-O-robinobioside from *Nitraria retusa* leaves enhance antioxidant and

antigenotoxic activity in human chronic myelogenous leukemia cell line K562.

BMC Complementary and Alternative Medicine 2012 ; 12 art 135.

11 . Bouguedoura N, Bennaceur M. et Benkhalifa A, 2010 . Le palmier dattier en Algérie

12. Bouguedoura N. 1991. Connaissance de la morphogénèse du palmier dattier. Etude in situ et Btana » et détermination de leur biodiversité microbienne. Thèse doctorat en Microbiologie

13. Buelguedj M ,(2001). Caractéristiques des cultivars de dattes dans les palmeraies du sud-Est

14. Bush, K., Courvalin, P., Dantas G., et al. Tackling antibiotic resistance. Nature Reviews Microbiology, (2011), 9: 894–6.

15. Djerbi, M. (1994). Précis de phoeniciculture. FAO, p 192.

16. Dowson V. H.U et Aten A. (1963). Composition et maturation. Récolte et conditionnement des dattes. Collections FAO, Rome, cahier n°72,1-394.

17. Dowson, VHW. Date production and protection. FAO plant production and protection. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, (1982), p. 35. Editions IRD, France. 15-22.

18. El Hadrami, I. and El Hadrami, A. (2009). Breeding date palm. In: Jain S.M. and P.M. Priyadarshan (Eds.) Breeding Plantation Tree Crops, Springer, New York, p 191-216.

19. Elhadrami I. et Elhadrami A. 2009. Breeding date palm. In Breeding Plantation Tree Crops

20. Escuredo O., Fernandez-Gonzalez M. and Seijo M.C, 2012. Differentiation of blossom honey and honeydew honey from northwest Spain. Agriculture. 2:25-37.

21. Farhadi F, Khameneh B, Iranshahi M, Iranshahi M. Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship: An update review. Phytoth. Res. 2019;33(1):13-40. Fondamentale et Appliquée. Université Ahmed Ben Bella Oran.

- 22.Hota, B., Ellenbogen, C., Hayden MK., Aroutcheva, A., Rice, TW., Weinstein, RA.** Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections at a public hospital : do public housing and incarceration amplify transmission. *Archives of Internal Medicine*, (2007), 167:1026–33. In : Options méditerranéennes, série, N°28.
- 23.Laouni S .2014** Etude photochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de *Phoenix dactylifera* L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf) thèse de doctorat de l'université Mohamed khider Biskra p 23
- 24.Matallah M.A.A. 2004.** Contribution à l'étude de la conservation des dattes variétés Deglet- Nour : Isotherme d'adsorption et de désorption. Mémoire d'Ingénieur agronome, INA. El- Harrach, 79 p.
- 25.Mujahid, N. S., Kutama, A. S., Sani, N. M., and Bashir A. (2017).** *In-vitro* Antifungal Evaluation of *Cinnamomum zeylanicum* and *Leptadenia hastata* on *Malassezia* species. *Umyu journal of microbiology research*,2(1), 251–256.
- 26.Munier P. 1973** - Le palmier dattier. Techniques agricoles et productions tropicales. G. P. Maisonneuve & Larose, Paris, 221 p.
- 27.Newmann D. and Cragg GM.** Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products* 2007 ; 70: 461-477.
- 29.Oyedemi S O, Afolayan A J.** Antibacterial and antioxidant activities of hydroalcoholic stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pacific journal of tropical Medicine* 2011; 4: 952-958.
- 30.Peyron G. (2000)** cultiver le palmier dattier. Guide illustré de formation. Quae, France 112p.
- 31.Saba ZH, Yusoff KM, Makpol S et Yusoff MAY . 2011.** Antioxidant capacities and total phenolic contents increase with gamma Irradiation in two types of Malaysian honey. *Journal Molecules*. 16: 6378-6395.
- 32.Sani, N.M. and 1Abdulkadir, F. and 2Mujahid, N.S. (2017)** Antimicrobial Activity Of *Phoenix Dactylifera* (Date Palm) On Some Selected Members Of

Enterobacteriaceae *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 10(1): 36 – 39 ISSN 2006 – 69

33. Shraideh Z., Abu-Elteen K. and Sallal A. K. 1998. Ultrastructural effects of date extract on *Candida albicans*. *Mycopathologia* 142(3), 119-123.

34. Shuvasish, C., Parul, S., Manabendra, DC., Gauri, DS. Ethnomedicinal plants used by Choreitribes of Southern Assam, North Eastern India. *Asian. Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, (2012), 2(1):141-147.

35. Siddiqui, MH., Mohamed Al-Whaibi, H., Mohammed Basalah, O. Role of nitric oxide intolerance of plants to abiotic stress. *Protoplasma*, (2010), 248:447-455.
Situation, contraintes et apports de la recherche. In : *Biotechnologie du palmier dattier*.

36. Tirichine H S., 2010 – études ethnobotanique , activité anti oxydante photochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) du sud- est Alg érien .m émoire du dipl ôme de magister en biologie .universit éd ORANes Senia.106p.

37. Seelig, RA. (1974). Fruits and vegetables facts and pointers. United fresh fruit and vegetable association, Washington, DC, USA.

Annexes

Annexe 01

Bouillon nutritif (g/l)	
Mac ération de viande (ou extrait de viande + eau distillé.....1litre	
Peptone trypsique.....15	
NaCl ou KCl.....5	
pH 7,2	

Muller-Hintone(MH) (g/l)	
Infusion de viande de bœuf.....300	
Hydrolysate de caséine.....17,5	
Amidon.....1,5	
Agar.....17	
pH 7,4	

Chapman (g /l)	
Peptone10	
Extrait de viande de bœuf1	
Chlorure de sodium.....75	
Mannitol.....10	
Rouge de phénol.....0.025	
Agar-agar.....15	
Eau distillé.....1L	
Ph= 7.4	

MacConkey (g /l)	
Peptone20	
Lactose10	
Sels biliaires1.5	
Cristal violet.....0.01	
rouge neutre0.05	
chlorure de sodium.....5	
Agar.....15	

King A(g /l)	
Peptone dite b20	
Glyc érol.....10	
Sulfate et potassium.....10	
Chlorure de magnésium.....1.4	
Agar purifié12	
Ph= 7.2	

King B (g /l)	
Peptone dite b.....20	
Glycérol.....10	
hydrog érophosphate de potassium.....1.5	
sulfate de magnésium heptahydraté.....1.5	
Agar purifié.....12.	
pH =7.2	

Annexe 02



Photo 01: le milieu de culture MH
G dose



photo2 : le milieu de culture
nutritif



Photo 03 :Agitation dans le shacker (150 rota/min)



photo 04 : évaporation des solvants
des extraits (M éthanoliques et aqueux)



Photo 05: le palmier dattier au moment d'échantillonnage



Photo 06: les feuilles de palmier dattier lors de séchage



Photo 07 : Ensemencement des suspensions bactériennes sur milieu MH



Photo 08 : tamiseur (500 µm)

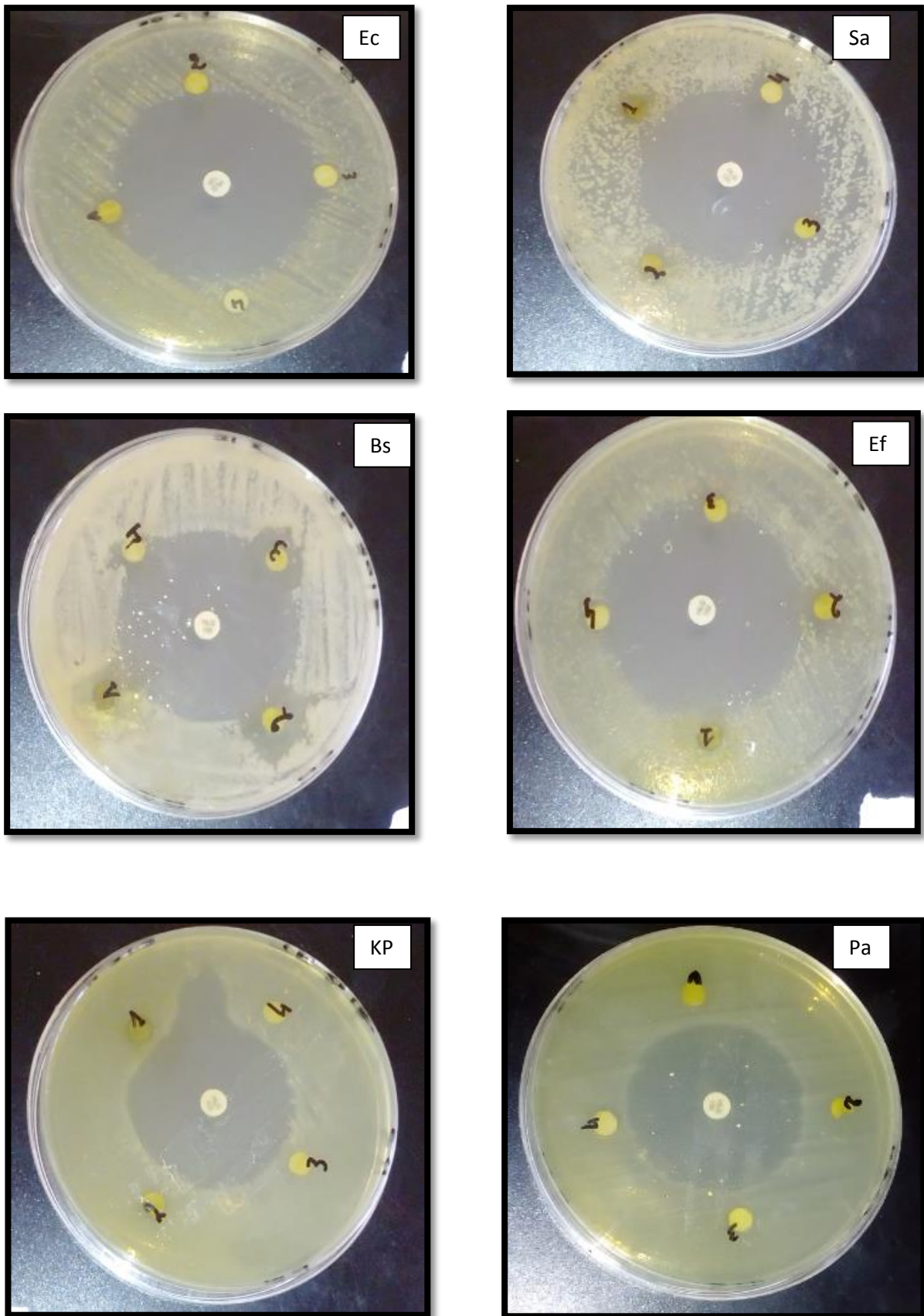


Photo 09 : activité antibactérienne des extraits méthanolique de la variété TD- N sur six souches utilisées avec différentes concentration

statistique des agents responsable des infections nosocomiale au niveau de laboratoire de l'EPH (2018-2019)

sexe	Type de prélèvements	Bactérie	ATB
H	Urine	<i>Entérobactérie</i>	AM-AMS-FF
F	Urine	<i>Esherishia coli</i>	AM-AMS-SA
F	Urine	<i>Pseudomonas airegenosa</i>	AM-AMS-CZ-CTX-CIP-GEN-
F	Urine	<i>Esherishia coli</i>	XX-AMP-CX-CZ
M	Urine	<i>Esherishia coli</i>	AX-AMP-CZ
F	Urine	<i>Esherishia coli</i>	AMC-CZ-AX-AMP
H	Urine	<i>Esherishia coli</i>	AMP-CZ-AMC-AX
F	Urine	<i>Klebisella pneumonie</i>	COT-AMP-AMC-CZ-CTX
H	Urine	<i>Pseudomonas airegenosa</i>	TCC-CFS
F	Urine	<i>Pseudomonas airegenosa</i>	AMP-AMC-CZ-FF-NA-SXT
F	Urine	<i>Pseudomonas airegenosa</i>	AMC-AX-AMP-COT-NA
H	Urine	<i>Pseudomonas airegenosa</i>	AMC-AMP-OF-NA-AX
F	Urine	<i>Pseudomonas airegenosa</i>	OF-COT-NA-AX-AMC-AMP-CZ
H	Plus (os)	<i>Staphylococcus aureus</i>	P-OX
F	Plus	<i>Esherishia coli</i>	AK
H	Plus	<i>Porteous vulgarise</i>	LOT-GEN-CX-MAX-FF-CZ-AMP-AMC
H	Liquide pleural	<i>Pseudomonas sp</i>	FOS-SXT-LEV-TCC-CFS
H	Hémoculture	<i>Entérobactérie (non identifier)</i>	LOT-AMC-AMP-CFS-FOX
H	Hémoculture	<i>Bacille Gram – (non identifier)</i>	CZ-COT-FF-AMC-AMP-CFS-TCC-CAZ
F	Plus otite	<i>Streptocoque hémolytique</i>	RP-L-S-AX-OX-AMP-CZ-SXT
F	Liquide pré-aurale	<i>Entérobactérie</i>	OX-RA-FOX
H	Hémoculture	<i>Bacille Gram -</i>	CTX-AMC-AMP-CZ-SXT
M	Plus	<i>Staphylocoques aureus</i>	OX-RA-FOX
F	Plus	<i>Staphylocoques aureus</i>	FA-DAL-RA-TE-OX-K-RP
F	Plus	<i>Staphylocoques aureus</i>	OX
F	Liquide biliaire	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CAZ-TCC-CFS
F	Plus	<i>Entérobactérie</i>	AX-AMC-LZ
H	Plus	<i>Staphylococcies aureus</i>	CZ-AMP-CTX-AMC-CL-XM-COT-OF-GEN-FA-RA-DA-E-RP-K
H	Hémoculture	<i>Entérobactérie</i>	DA-OX
H	Liquide de drainage	<i>Entérobactérie</i>	COT-C-GEN-COT-VA-NA-AMC-CTX-CZ-AMP
F	Hémoculture	<i>Entérobactérie</i>	GX-AMC-CZ-AMP-OF-NA
H	Plus	<i>Entérobactérie</i>	C-NA-FOX-OF-AMC-AMP-CZ-CTX
H	Plus	<i>Entérobactérie</i>	GN-C-OF-CTX-AMP-CZ-CX-CXM-FOX-AMC
H	Plus	<i>Porteous mirabilis</i>	GEN-AX-CTX-CZ-AMP
H	Plus	<i>Citrobacter</i>	COT-AX-CTX-AMP-CZ
H	Plus	<i>Entérobactérie</i>	CTX-GEN-AMP-AX-CZ-CIP-AMC
F	Plus	<i>Klebisella pneumonie</i>	COT-GEN-AX-AMP-CTX-CZ