

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'étude

Mémoire de Master

Pour l'obtention du diplôme

de Master complémentaire

THEME

L'effet des feuilles d'olivier sur les entérobactéries "E. coli et Salmonelle"

Présenté par :

Monsieur : **ADJIM Ilyas**

Soutenu le : 20/07/2023

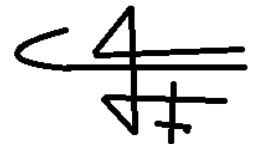
Devant le jury composé de :

- Président : KHELEF Djamel (Pr)
- Promoteur : DJEZZAR Redha (MCB)
- Examinatrice : MIMOUNE Nora (MCA)

DECLARATION SUR L'HONNEUR

Je, soussignée Mr Adjim ilyas, déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, j'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire de fin d'étude.

Signature

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'A' followed by a horizontal line and a small cross-like mark.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à Dieu pour m'avoir accordé le courage et la force nécessaires pour mener à bien ce travail.

En premier lieu, je souhaite exprimer mes sincères remerciements à mon promoteur, M. DJEZZAR, sans qui ce projet n'aurait jamais vu le jour. Son encadrement, son soutien constant et sa présence tout au long de mon étude ont été d'une valeur inestimable.

J'adresse également mes remerciements les plus chaleureux aux membres du jury, M. BAROUDI Djamel et Mme MIMOUNE Nora, d'avoir accepté d'évaluer mon travail. Leur expertise et leurs précieux commentaires ont grandement enrichi ma recherche.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Mme SAHRAOUI Lynda pour son assistance au laboratoire et son soutien inestimable dans mes recherches.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance à tous mes amis pour leur soutien et leur encouragement constants.

Au terme de mes études, je tiens à remercier sincèrement l'ensemble du corps enseignant et du personnel de l'ENSV. Leur contribution à mon évolution et à mon apprentissage a été d'une importance capitale, et je leur suis infiniment reconnaissant.

Enfin, je voudrais adresser mes remerciements les plus sincères à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail. Leur soutien et leur confiance ont été des moteurs essentiels dans mon parcours.

Merci à tous du fond du cœur pour votre précieuse collaboration et votre apport inestimable à la réussite de mon master.

Dédicaces

À mes parents, pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leur sacrifice constant tout au long de mes études. Votre soutien m'a permis de réaliser ce projet et d'atteindre mes objectifs. Je vous en suis éternellement reconnaissant.

*A tous les membres de **la famille ADJIM***

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

À mes amis, Badro , selsa , rafik , soundos , raouf , bouchera pour leurs encouragements constants, leur présence rassurante et leurs précieux moments de détente. Votre soutien moral et votre amitié sincère ont été une source d'inspiration et de motivation tout au long de ce projet. Merci d'avoir été là à chaque étape de mon parcours.

À toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de ce projet, je vous adresse ma plus profonde reconnaissance. Vos encouragements, vos conseils et votre soutien ont été d'une valeur inestimable. Ce projet représente le fruit de notre collaboration et je suis reconnaissant de vous avoir eu à mes côtés tout au long de ce parcours.

ADJIM Ilyas,

Liste de figures :

Figure1 : Escherichia coli sur gélose Mac Conkey Colonies lactose (+) 4h à 37°C (microbiologie médicale).

Figure 2: E. coli sur gélose EMB (microbiologie clinique).

Figure 3 : les antigènes de E.coli (ECL,2004).

Figure 4 : Représente la farine des feuilles d'olivier.

Figure 5 : Présente la farine et le solvant.

Figure 6 : photo présente extraction des composés phénoliques.

Figure 7 : photo présente la macération des composés.

Figure 8 : photo présente la filtration des composés phénoliques.

Figure 9 : Préparation des boîtes de Mueller Hinton pour la technique d'aromatogramme.

Figure 10 : photo présente l'ensemencement des échantillons.

Figure 11 : photo présente l'étape de l'incubation.

Liste des tableaux :

Tableau1: systématique et taxonomie des entérobactéries (techmicrobio.eu).

Tableau 2 : Caractères biochimiques différentiels du genre *Escherichia* et genres *enterobacteriaceae* proches (Farmer et al, 1985)

Tableau 3 : Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre *Salmonella*

Tableau 4 : représente tous les molécules utilisés

Sommaire

Introduction Générale.....	1
Chapitre 1 : Contexte général de l'antibiorésistance	2
Introduction :.....	2
1. LES ANTIBIOTIQUES :.....	2
1.1 Définition des antibiotiques	2
1.2 Classification des antibiotiques	2
1.3 Usage des antibiotiques en élevage avicole :.....	2
1.3.1 L'usage thérapeutique :.....	2
1.3.2 L'usage zootechnique :	2
1.4 Les risques présentés par l'usage des antimicrobiens :	3
2. Antibiorésistance :.....	3
2.1. Les différents types de résistance :	3
2.1.1. La résistance naturelle :	3
2.1.2. La résistance acquise :.....	3
Chapitre 2 Les entérobactéries	3
1. Définition :.....	3
2. Taxonomie :.....	4
3. Historique :	4
4. Habitat :	5
5. Classification :	5
Escherichia coli :	5
1. HISTORIQUE.....	5
2. CARACTERE BIOLOGIQUE :	5
2.1. Souches typiques d'Escherichia Coli :.....	5
2.1.1. Caractères cultureux :.....	5
2.1.2. Caractères morphologiques	5
2.1.3. Caractères biochimiques :	7
2.2. Souches atypiques d'Escherichia Coli :.....	8
3. PROPRIETES ANTIGENIQUES :	8
3.1. Les antigènes somatiques O :.....	8
3.2. Les antigènes flagellaires H :	8
3.3. Les antigènes capsulaires K :	8
3.4. Les antigènes de surface de type F :	8

Salmonelle :	9
1. Historique:	9
2. Caractères bactériologiques :	9
2.1. Souches typiques de <i>Salmonella</i> :	9
2.1.1. Caractères culturaux :	9
2.1.2 Caractères morphologiques :	10
2.1.3. Caractères biochimiques :	10
3. Propriétés antigéniques :	11
3.1. Les antigènes somatiques O :	11
3.2. Les antigènes flagellaires H:	11
3.3. Les antigènes capsulaires K ou Vi :	12
3.4. Les antigènes de surface F :	12
Staphylococcus aureus :	12
1. Historique :	12
2. Caractères bactériologiques :	13
2.1.1. Caractères culturaux :	13
2.1.2. Caractères morphologiques :	13
2.1.3. Caractères biochimiques :	13
3. Propriétés antigéniques :	14
3.1. Les antigènes somatiques O :	14
3.2. Les antigènes flagellaires H :	14
3.3. Les antigènes capsulaires K ou Vi :	14
3.4. Les antigènes de surface F :	14
Chapitre 3 : l'olivier	15
1. L'olivier :	15
2. Historique :	15
3. L'olivier dans le monde :	15
4. L'olivier en Algérie :	16
Partie expérimentale	17
Objectif :	17
Matériels et méthodes :	17
1. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et à l'olivier	17
1.1 L'antibiogramme :	17
Préparation de l'inoculum	17

L'Ensemencement	17
Application des disques d'antibiotiques	17
Lecture et interprétation.....	18
1.4.2 Extraction du produit (feuille d'olive)	18
1. Préparation de l'échantillon	19
2. Préparation du solvant	19
3. Extraction	20
4. Macération	20
5. Filtration	21
Evaluation de l'activité antimicrobienne du produit.....	21
1. L'aromatogramme	21
Préparation de l'inoculum.....	22
L'ensemencement	22
Préparation des disques d'aromatogramme	22
L'incubation et lecture	22
Résultats :	24
Discussion :	28
Conclusion :	30

Liste des tableaux

Tableau1: systématique et taxonomie des entérobactéries (techmicrobio.eu).

Tableau 2 : Caractères biochimiques différentiels du genre *Escherichia* et genres *enterobacteriaceae* proches (Farmer et al, 1985)

Tableau 3: Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre *Salmonella*

Introduction Générale

La culture de l'olivier en Algérie remonte à plusieurs siècles et est l'une des pratiques agricoles les plus anciennes du pays. L'olivier (*Olea europaea*) est bien adapté au climat méditerranéen de l'Algérie, et ses oliveraies couvrent de vastes régions du pays, en particulier dans les régions côtières et montagneuses.

L'huile d'olive et les feuilles d'olivier sont deux éléments couramment utilisés en phytothérapie pour leurs propriétés bénéfiques pour la santé.

En élevage avicole, les feuilles d'olivier sont plutôt les plus utilisées et peuvent être utilisées de différentes manières :

Antimicrobien : Les extraits de feuilles d'olivier ont montré des propriétés antimicrobiennes, ce qui signifie qu'ils peuvent aider à combattre certains types de bactéries et de champignons (**Cowan, 1999), Sudjana et al, 2009**).

Antioxydant : Les polyphénols présents dans les feuilles d'olivier ont également des propriétés antioxydantes, qui peuvent contribuer à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres.

Immunostimulant : Certains composés présents dans les feuilles d'olivier pourraient aider à stimuler le système immunitaire, renforçant ainsi la capacité du corps à lutter contre les infections.

Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que les extraits de feuilles d'olivier peuvent avoir une activité antimicrobienne contre certaines bactéries pathogènes communes chez les poulets, telles que *Salmonella* et *Escherichia coli*. Les composés actifs présents dans les feuilles d'olivier, tels que les polyphénols, peuvent agir en perturbant la membrane cellulaire des bactéries, entraînant ainsi leur inhibition de croissance ou leur destruction (**Bisignano et al, 1999**).

L'utilisation d'extraits de feuilles d'olivier dans l'alimentation des poulets de chair peut également avoir un effet positif sur leur santé globale, en contribuant à renforcer leur système immunitaire et en réduisant la prévalence des infections bactériennes.

Cependant, il est essentiel de noter que les résultats de ces études peuvent varier en fonction de divers facteurs, tels que les méthodes d'extraction des extraits, les concentrations utilisées, les souches spécifiques de bactéries étudiées et les conditions d'élevage des poulets. Par conséquent, avant de considérer l'utilisation d'extraits de feuilles d'olivier dans l'alimentation des poulets de chair à des fins antimicrobiennes, des recherches plus approfondies sont nécessaires pour évaluer leur efficacité, leur innocuité et leurs doses appropriées.

Dans ce contexte général, l'objectif de notre travail est de montrer *in vitro*, dans un premier temps, l'effet de la poudre de feuilles d'olivier, puis l'effet de l'extrait brut des feuilles d'olivier dans un deuxième temps, sur quelques bactéries pathogènes (*Salmonelle*, *E. coli* et *Staphylocoque*)

Chapitre 1 : Contexte général de l'antibiorésistance

Introduction :

Les maladies infectieuses, notamment bactériennes, restent au premier rang des causes de décès les plus fréquentes dans le monde. Parmi tous les médicaments utilisés pour lutter contre ces maladies, les antibiotiques sont sans aucun doute les plus couramment utilisés et ont contribué à augmenter l'espérance de vie de plus de 10 ans (**McDermott et al., 1982**).

1. LES ANTIBIOTIQUES :

1.1 Définition des antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques ayant une action sélective et ciblée sur les micro-organismes, tels que les bactéries et les protozoaires, mais sans effet sur les virus. Un grand nombre d'antibiotiques sont fabriqués par des micro-organismes, tels que des champignons ou d'autres bactéries, qui les produisent pour éliminer les bactéries concurrentes avec lesquelles ils sont en compétition dans leur biotope. Les antibiotiques sont des molécules capables d'inhiber la croissance ou de tuer les bactéries, et peuvent être d'origine naturelle ou synthétique. En résumé, les antibiotiques sont des agents antimicrobiens puissants qui sont indispensables pour le traitement des infections bactériennes et des maladies infectieuses. Les antibiotiques sont donc des médicaments essentiels utilisés pour traiter une variété de maladies causées par des bactéries.

1.2 Classification des antibiotiques

Historiquement, la classification la plus courante des antibiotiques est basée sur leur structure chimique et leur mécanisme d'action (voir tableau 6 en annexe 1). Accessoirement, ils peuvent également être classés selon leur spectre d'activité (large ou étroit) ou selon leur capacité à inhiber la croissance des bactéries ou à les tuer (bactériostatique ou bactéricide).

1.3 Usage des antibiotiques en élevage avicole :

L'usage des antibiotiques en élevage avicole est de deux sortes: thérapeutique et zootechnique.

1.3.1 L'usage thérapeutique :

Les antibiotiques ont tout d'abord une utilisation thérapeutique visant à l'éradication d'une infection présente (but curatif) ou à la prévention d'une infection possible, lors d'un transport, d'une vaccination ou d'un stress (but prophylactique) (**Chaslus-Dancla, 2001**).

1.3.2 L'usage zootechnique :

L'utilisation régulière des antibiotiques dans l'alimentation animale comme facteur de croissance a pour objectif essentiel l'accroissement de sa productivité. Leur incorporation dans l'alimentation des animaux permet une homogénéité des bandes avec un faible écart de poids entre les sujets et la production d'une même quantité de viande, en une période plus courte (**Pederson et Edqvist, 2000**).

La décision n°084/2003 du 24/03/2003 du ministère de l'agriculture et du développement rural prévoit que: Les substances médicamenteuses appartenant au groupe des antibiotiques, autorisées à être incorporées dans l'alimentation animale sont les suivantes: Avilamycine. Flavopholipol.

La non-observation de la décision ci-dessus a conduit à des pratiques dans le domaine de l'élevage de poulet de chair, qui ont continué d'utiliser divers antibiotiques comme additifs alimentaires, et qui ont engendré une résistance aux antibiotiques. Face à cette situation, le secteur de l'agriculture et du développement rural a promulgué le règlement ci-dessous pour mettre fin à ces pratiques.

Le règlement n° 472/2006 du 24/12/2006 du ministère de l'agriculture et du développement rural prévoit que: Les substances médicamenteuses considérées comme additifs, appartenant au groupe des antibiotiques, sont interdites d'utilisation dans l'alimentation animale.

1.4 Les risques présentés par l'usage des antimicrobiens :

Les risques d'usage d'antimicrobiens dans les élevages avicoles sont de deux types :

- la présence des résidus dans les viandes
- l'acquisition de résistances aux antibiotiques par les bactéries.

2. Antibiorésistance :

L'antibiorésistance, également connue sous le nom de résistance aux antibiotiques, est le phénomène dans lequel les bactéries développent une capacité à survivre ou à se reproduire en présence d'antibiotiques qui étaient auparavant efficaces pour les traiter. Cela se produit lorsque les bactéries subissent des mutations ou acquièrent des gènes de résistance par le biais de l'échange de matériel génétique. L'antibiorésistance est un problème de santé publique mondial croissant, car elle rend les infections bactériennes de plus en plus difficiles à traiter, augmentant ainsi le risque de complications graves et de mortalité.

2.1. Les différents types de résistance :

2.1.1. La résistance naturelle :

La résistance aux ATB peut être naturelle ou acquise : Elle représente une propriété intrinsèque, c'est une insensibilité aux ATB, existant naturellement chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien, et fait partie de son patrimoine **génétique (Yalla et al., 2001; Courvalin, 2008)**. Exemple: *Pseudomonas aeruginosa* n'est jamais sensible à l'ampicilline.

2.1.2. La résistance acquise :

Résistance qui apparaît chez des bactéries jusqu'alors sensibles aux antibiotiques, échappant ainsi à son effet thérapeutique. Elle résulte d'une modification du patrimoine génétique chromosomique ou plasmidique. Elle ne concerne que quelques souches au sein de l'espèce considérée mais peut s'étendre (**Alami et al., 2005 ; Lavigne, 2007 ; Courvalin, 2008**).

Chapitre 2 Les entérobactéries

1. Définition :

La famille des entérobactéries comprend plusieurs genres bactériens qui se définissent par les critères suivants (certains genres ne répondent pas à tous ces critères) :

Ce sont des bacilles à Gram négatif, immobiles ou mobiles avec leur ciliature pérित्रиче. Ils sont aéro-anaérobies facultatifs, se développent sur milieu ordinaire. Ils fermentent le glucose avec ou sans production de gaz, réduisent le nitrate en nitrite et ne possèdent pas d'oxydase (**FRENEY et CROZE, 2007**).

2. Taxonomie :

Les entérobactéries appartiennent au règne des Bacteria, à l'embranchement des Protéobacteria, à la classe des Gamma-protéobacteria à l'ordre des *Enterobacteriales* et à la famille des *Enterobacteriaceae* (**DENIS, 2007**).

Actuellement plus de 40 genres et plus de 1700 espèces différents sont décrits au sein de cette famille. Leur classification est basée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques (fermentation de différents sucres, production ou non de sulfure, présence ou absence de certains enzymes du métabolisme et ou génotypiques (ribotypage, hybridation ADN/ADN) (**DENIS, 2007**).

phylum XXI : Proteobacteria	Class I : Alphaproteobacteria	Ordre II : Rickettsiales	famille des Rickettsiales (incluant le genre Rickettsia)
			famille des Anaplasmataceae (incluant le genre Erlichia parfois élevé en famille)
		Ordre IV : Sphingomonas	famille des Sphingomonadaceae avec le genre Sphingomonas
		Ordre V : Caulobacteriales	famille des Caulobacteraceae avec le genre Brevundimonas
		Ordre VI : Rhizobiales	famille des Brucellaceae avec le genre Brucella
			famille des Rhizobiaceae (genres Rhizobium...)
			famille des Bartonellaceae (genres Bartonella...)
	Class II : Bétoproteobacteria	Ordre I : Burkholderiales	famille des Burkholderiaceae
			famille des Ralstoniaceae
			famille des Alcaligenaceae (genres Alcaligenes, Achromobacter, Bordetella...)
			famille des Comamonadaceae
		Ordre IV : Neisseriales	(famille des Neisseriaceae avec les genres Neisseria, Eikenella, Kingella...)
	Class III : Gammaproteobacteria	Ordre III : Xanthomonadales	famille des Xanthomonadaceae (avec les genres Stenotrophomonas, Xanthomonas...)
		Ordre V : Thiotrichales	(famille III : Francisellaceae)
		Ordre VI : Legionellales	famille des Legionellaceae (avec le genre Legionella)
			famille des Coxiellaceae (avec le genre Coxiella)
		Ordre IX : Pseudomonadales	famille des Pseudomonadaceae (avec les genres Pseudomonas, Morococcus...)
			famille des Moraxellaceae (avec les genres Moraxella, Acinetobacter...)
		Ordre X : Alteromonadales	famille des Alteromonadaceae (avec les genres Alteromonas, Shewanella...)
		Ordre XI : Vibrionales	famille des Vibrionaceae (avec les genres Vibrio, Listonella, Photobacterium...)
		Ordre XII : Aeromonadales	famille des Aeromonadaceae (avec les genres Aeromonas,...)
		Ordre XIII : Enterobacteriales	famille des Enterobacteriaceae (avec les genres classiques mais aussi Plesiomonas...)
		Ordre XIII : Pasteurellales	famille des Pasteurellaceae (avec les genres Pasteurella, Haemophilus, Actinobacillus...)
	Class IV : Deltaproteobacteria		
	Class V : Epsilonproteobacteria	Ordre I : Campylobacterales	famille des Campylobacteraceae
			famille des Helicobacteraceae

Tableau1: systématique et taxonomie des entérobactéries (techmicrobio.eu).

3. Historique :

La naissance des entérobactéries se situe en 1937, lorsque OTTO RAHN a proposé le genre Enterobacter pour regrouper les microorganismes présentant des propriétés biochimiques et morphologiques communes, et parmi lesquels se trouvait déjà des noms tels que : *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Shigella*.

Deux ans après cette description qui concernait 112 espèces, ce nombre a été ramené à 67. Avec les travaux de BRENNER et GRIMONT de nouveaux genres, et espèces furent découverts. En 1972, EDWARD et EWING ont intégré 11 genres et 26 espèces dans la famille des entérobacteriaceae. En 1973, se fut la caractérisation de 31 genres et 139 espèces. Enfin en 1985, FARMER et al. Ont décrit 22 genres comprenant 69 espèces et 29 groupes entériques (**FARMER, 1999**).

4. Habitat :

Les entérobactéries sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et de tous les animaux à sang chaud (**FRENEY et CROZE, 2007**).

5. Classification :

Il existe deux classifications des entérobactéries : l'ancienne traditionnelle qui classait les entérobactéries en « tribus » basée sur quelques caractères biochimiques (VP, TDA) est actuellement caduque sur le plan taxonomique. La classification actuelle est basée sur l'hybridation ADN-ADN. Le séquençage complet a bouleversé la taxonomie des entérobactéries et de nombreux genres sont apparus (**DENIS et al., 2007**).

Escherichia coli :

1. HISTORIQUE :

E coli communément appelée colibacille a été isolée pour la première fois en 1885 par le bactériologiste allemand Theodor Escherich dans les selles de nourrisson « diarrhée infantile », et lui a attribuée le nom de *Bacterium coli* commune (**Escherich, 1885**), puis renommée en 1911 par Castellani et Chambers (**Grimont, 1987**).

E coli appartient à la famille des *Entérobactériaceae* qui doit son nom à leur isolement fréquent dans le tube digestif et/ou des fèces des mammifères (**Greatorex et thorn, 1994**).

2. CARACTERE BIOLOGIQUE :

2.1. Souches typiques d'Escherichia Coli :

E coli possède les caractères classiques des *Entérobactériaceae* (**Richard, 1994**).

2.1.1. Caractères culturels :

E coli est aérobie facultative, une température de croissance comprise entre 15 et 45°C avec un optimum de 37°C, une variation de pH (potentiel Hydrogène) entre 4,4 et 9 avec un optimum de 7,5. Se multiplie sur milieu gélosé sélectif ou ordinaire (**Tap, 2004**).

2.1.2. Caractères morphologiques :

Bacille Gram-, de 2µ à 3µ de long sur 0.7µ de large non sporulé, ils se présentent soit seuls ou groupés le plus souvent par deux (*diplobacilles*), rarement en amas. Ils possèdent une mobilité réduite grâce à une ciliature péritriche.

Les souches *E coli* donnent en 18 à 24h (heures) des petites colonies de 2 millimètres (mm) de diamètre qui dont les caractéristiques sont semblables mais non spécifiques : elles sont rondes, plates en « dos de scarabée » et à bords réguliers, convexes, lisses, et incolores **(Richard, 1989)**.

Les colonies sont de couleur rose clair et entourées d'un halo de précipitation de sels biliaries sur gélose Mac Conkey. Elles sont noirâtres, avec un reflet vert métallique sur gélose EMB (éosine-méthylène Blue) **(Messai, 2010)**.

Figure1 : Escherichia coli sur gélose Mac Conkey Colonies lactose (+) 4h à 37°C **(microbiologie médicale).**

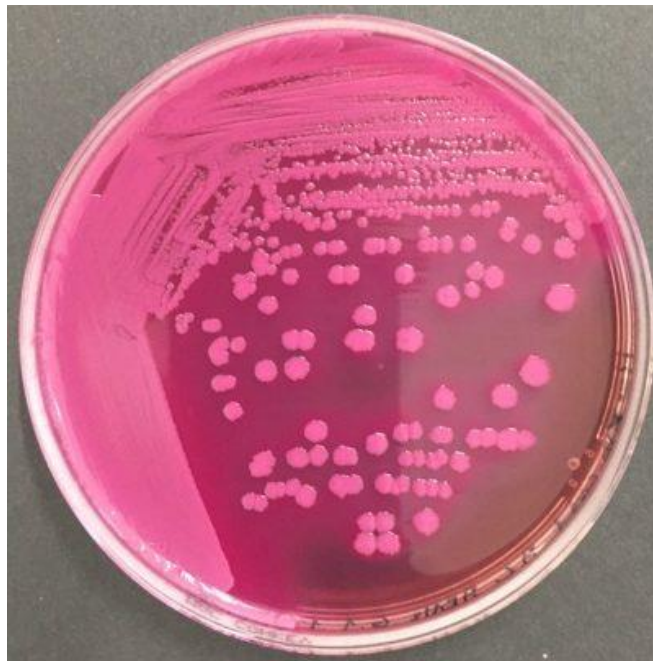


Figure 2: *E. coli* sur gélose EMB (microbiologie clinique).



2.1.3. Caractères biochimiques :

E. coli possède des caractères biochimiques particuliers permettant de la différencier des espèces voisines.

Tableau 2 : Caractères biochimiques différentiels du genre *Escherichia* et genres enterobacteriaceae proches (Farmer et al, 1985)

	<i>Escherichia</i>	<i>Shigella</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Salmonella</i> *	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Hafnia</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Buttiauxella</i>	<i>Cedecea</i>	<i>Klyuvera</i>	<i>Moellerella</i>
β-galactosidase	++	d	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+
Uréase	-	-	d	-	-	-	d	d	-	-	-	-
Mobilité à 36°C	d	-	+	+	+	+	d	-	+	+	+	-
Gaz en glucose	+	-	+	+	+	d	d	d	+	+	+	-
Indole	+	d	d	-	-	-	-	d	-	-	+	-
LDC	d	-	-	+	d	+	+	+	-	-	d	-
Citrate de Simmons	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
VP	-	-	-	-	+	d	d	d	-	d	-	-
ADH	-	-	d	+	d	-	-	-	-	+	-	-
ODC	d	d	+	+	d	d	+	-	+	d	+	-

**Salmonella* y compris SG HT (Arizona).

Résultats obtenus après 18-24 h d'incubation à 36-37°C.

**** Symboles :**

+ = positif pour 90% à 100%) des souches ; - = négatif pour 90% à 100%» des souches ; d = variable selon les souches.

2.2. Souches atypiques d'Escherichia Coli :

Ce n'est pas exceptionnel d'isoler des souches *E coli* ne présentant pas tous les caractères habituels mentionnés ci-dessus (**Richard, 1989**).

3. PROPRIETES ANTIGENIQUES :

E coli possède des antigènes variés associés à quatre types de structures (**Orskov et Genus, 1986**), l'étude de ces antigènes permet une classification antigénique d'*E coli* et de définir le sérotype.

3.1. Les antigènes somatiques O :

Sont associés aux lipo-polysaccharides de la paroi et ont une variabilité qui permet de décrire au moins 164 spécificités. L'identification de la spécificité est habituelle pour décrire une souche il s'agit du séro-groupage O (**Levine, 1987 ; Su et Brant, 1995**).

3.2. Les antigènes flagellaires H :

Sont associés aux protéines des flagelles et sont également variés. Une cinquantaine ont été identifiés grâce à des méthodes d'agglutination ou d'immobilisation dans une gélose mobilité, leur identification permet de déterminer le sérotype d'une souche de colibacille.

3.3. Les antigènes capsulaires K :

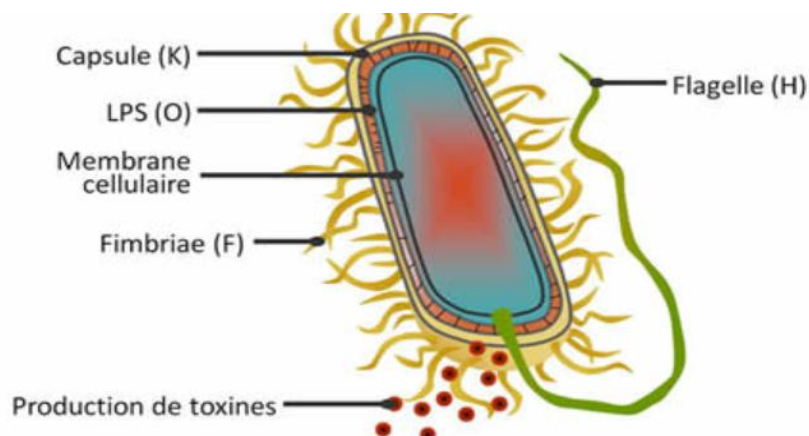
Sont de nature polysaccharidique et sont inégalement répartis dans l'espèce. Certains constituent une véritable capsule, 80 spécificités sont reconnues dont la spécificité K1 (*E coli* K1 responsable de méningites néonatale; Levine, 1984) et la spécificité K12 (souche K12 très utilisée en génétique bactérienne) sont les plus connues.

3.4. Les antigènes de surface de type F :

Sont présents chez les souches ayant des propriétés d'adhésion. Ils sont souvent associés aux fimbriae ou au pili et sont donc de structure, ce qui explique la désignation F souvent employée.

Ces antigènes protéiques sont codés soit par un chromosome et organisés sous forme d'opéron (antigène F1, antigène F7...), soit par un plasmide (F2, F3,...).

Figure 3 : les antigènes de E.coli (ECL,2004).



Salmonelle :

1. Historique:

L'histoire des salmonelles, depuis l'isolement de la première souche jusqu'à la compréhension du groupe et des interrelations entre ses membres, est longue et compliquée et s'étale sur une période de plus de 50 ans (**DEDET, 2007**). Elle peut se résumer comme suit :

En 1880 : Eberth a mis en évidence le premier bacille typhique à partir des coupes de rate et de ganglions lymphatiques mésentériques d'un patient mort de fièvre typhoïde (**FROBISHER et FERSTER, 1976**).

En 1884 : mise au point de la culture In vitro de cette bactérie par Gaffky (**LE MINOR, 1989**) En 1886 : Salmon et Smith ont isolé l'actuelle *Salmonella Enterica subsp. Enterica*.

En 1888 : Gaertner a isolé *Salmonella enteritidis* à partir d'une carcasse de vache abattue en urgence et du corps d'un homme décédé après la consommation de sa viande (**HARDY, 2004**)

En 1892 : Loeffler a isolé *Salmonella typhimurium* à partir du rat (**DEDET, 2007**)

1925-1930 : White et Kauffman, base de la classification antigénique : diversité antigénique (2400 sérotypes) (**LE MINOR et VERON, 1989**).

Le terme de Salmonella n'a été créé qu'en 1900 par Lignières, en l'honneur de Salmon, directeur des services vétérinaires des Etats-Unis à cette époque (**LE MINOR et VERON, 1989**).

2. Caractères bactériologiques :

2.1. Souches typiques de Salmonella :

2.1.1. Caractères culturels :

Les salmonelles sont des germes mésophiles aéro-anaérobies facultatifs et hygrophiles qui se présentent sous forme de bâtonnets de deux à trois microns de long et de 0.6 à 0.8 microns de large.

La plupart d'entre elles ne sporulent pas et ne possèdent pas de capsule (**GRIMONT 2000**).

En effet les salmonelles cultivent sur des milieux ordinaires à base d'extraits de viande. A une température optimale de croissance de 37°C, elles parviennent aussi à se développer, mais plus lentement, dans des conditions moins favorables de température (de 5 à 47°C) avec une croissance nettement ralentie pour les températures inférieures à 10 °C et à un pH optimum proche de la neutralité (entre 6.5 et 7.5), supportent une gamme de pH allant de 4.5 à 9. Elles se développent bien pour des valeurs d'activité d'eau (Aw) entre 0.945 et 0.999 mais elles peuvent survivre longtemps dans les produits déshydratés (**GRIMONT 2000**)

Généralement, le chlorure de sodium (Na Cl) possède des propriétés inhibitrices sur les bacilles à Gram négatif. Les salmonelles ne tolèrent pas des concentrations élevées et leur croissance est inhibée à 3 %. Les colonies obtenues sont rondes, lisses (ou Smooth : S) à bords réguliers et ont un diamètre de 2 à 3 mm. Il arrive exceptionnellement que des cultures de Salmonelles soient isolées sous forme rugueuse (ou Rough : R) qui sont rarement pathogènes (**GRIMONT 2000**).

A partir d'un échantillon mono microbien tel que le sang, une gélose ordinaire suffit à leur croissance alors que dans les cas de prélèvements poly microbien comme les selles, les milieux sélectifs sont indispensables (**PRESCOTT et TORTORA, 2003**).

2.1.2 Caractères morphologiques :

Les salmonelles sont des bacilles Gram négatif intracellulaire facultatifs, ne présentent ni spores ni capsule, de dimensions moyennes (0.5 à 1.5 µm de largeur sur 2 à 5 µm de longueur), généralement mobiles grâce à une ciliature peritriche. Quelques sérotypes sont cependant immobiles comme *S. Gallinarum* et *S. Pollorum* ainsi que certains mutants (**GRIMONT 2000**).

2.1.3. Caractères biochimiques :

Les Salmonelles possèdent les caractères généraux de la famille des Entérobacteriaceae : bacilles à Gram négatif, mobiles grâce à une ciliature péritriche, ou immobiles, non sporulés, donnant une réponse négative au test oxydase, et possédant une nitrate-réductase. Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et poussent sur les milieux ordinaires (**GRIMONT 2000**).

Au sein de la famille des Entérobactéries, les caractères permettant l'identification biochimique du genre *Salmonella* sont : l'absence d'uréase et de tryptophane désaminase, l'absence de production d'indole et d'acétoïne (test de Voges-Proskauer négatif), l'absence de fermentation du lactose, du saccharose, de l'inositol, de l'amygdaline, de l'adonitol et du 2-cétogluconate, la production d'H₂S à partir du thiosulfate (présence d'une thiosulfate réductase), la décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine, la capacité fréquente de croître sur le milieu au citrate de Simmons en l'alcalinisant (caractère citrate positif) (**GRIMONT 2000**).

Les deux espèces du genre *Salmonella* peuvent être différenciées par leur caractères biochimiques : *Salmonella bongori* ne fermente pas le sorbitol, contrairement à *Salmonella choleraesuis*, et elle cultive sur un milieu contenant du KCN alors que la plupart des souches de *Salmonella choleraesuis* ne cultive pas sur ce milieu.

Les six sous-espèces de l'espèce *Salmonella choleraesuis* peuvent également être identifiées par leurs caractères biochimiques (tableau 3).

Tableau 3 : Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre *Salmonella*

	Salmonella choleraesuis						Salmonella bongori
Caractères biochimiques	Subsp. enterica	Subsp. salamae	Subsp. arizonae	Subsp. diarizonae	Subsp. houtenae	Subsp. indica	
O.N.P.G	-	-	+	+	-	V	+
Gélatinase (36°C)	-	+	+	+	+	+	-

Culture sur milieu KCN	-	-	-	-	+	-	+
Dulcitol fermentation	+	+	-	-	-	V	+
Malonate (utilisation)	-	+	+	+	-	-	-
Sorbitol fermentation	+	+	-	+	-	+	-
Bêta glucuronidase	- V	V	-	+	-	V	-
Alphaglutamyltransférase	V	+	-	+	-	+	+

V : variable ou plus tardivement /+ : plus de 90 %des souches positives / - : moins de 10% des souches positives. **Source :GRIMONT (2000).**

3. Propriétés antigéniques :

Les caractères antigéniques des salmonelles permettent d'établir une classification en fonction de la formule antigénique de chacun des sérotypes connus. A l'heure actuelle, les salmonelles peuvent posséder les antigènes somatiques O, flagellaires H, capsulaires K ou VI et de surface F.

3.1. Les antigènes somatiques O :

Du mot allemand OhneHanch qui signifie sans film (**JAY, 2005 ; LECLERC, 1995**), les antigènes O sont portés par les chaînes lipopolysaccharidiques (LPS) composants majoritaires de la paroi bactérienne (**HUMBERT, 1998**). Ils représentent l'endotoxine des salmonella, il en existe 67, ils sont constitués de plusieurs éléments :

- L'objectif de cette combinaison est de favoriser la survie et l'implantation du probiotique au niveau de l'intestinle lipide A identique chez toutes les entérobactéries, responsable du pouvoir pathogène (**GLEDEL, 1996**) ;
- la partie basale dont la structure est semblable chez toutes les salmonelles (**HUMBERT, 1998**) ;
- des chaînes spécifiques polysaccharidiques constituées par la polymérisation d'unités oligosaccharidiques se composant de 2-6 monosaccharides (**SUTRA et al., 1998**)

3.2. Les antigènes flagellaires H:

Du mot allemand Hauch qui signifie film (**LECLERC, 1995**). Ce sont des polymères de flageline : protéine de structure des flagelles, qui présente une séquence constante en acides aminés détermine

un type antigénique donné (**JAY et al., 2005**). La majorité des Salmonelles sont diphasiques : elles peuvent posséder leur facteur H sous deux formes différentes dans un même sérotype. Cependant, un certain nombre se révèle monophasique : la bactérie ne peut synthétiser des flagelles que d'une seule spécificité car elle ne possède pas l'information génétique pour l'autre spécificité (**GLEDEL et CORBION, 1991 ; YAN et al., 2003**).

L'antigène H représente la forme mobile de la salmonella. Il est thermolabile (détruit par un chauffage à 100° C), détruit par l'alcool à 50%, insensible à l'action du formol 5%.

Les anticorps anti-H agglutinent les bactéries par leurs flagelles et ont la propriété d'entraver la mobilité des bactéries (**EUZEBY, 1982**).

3.3. Les antigènes capsulaires K ou Vi :

Ce sont des polysaccharides capsulaires. Ils entourent la paroi bactérienne et peuvent masquer les antigènes somatiques O et les rendre inagglutinables. Ces derniers sont démasqués par un chauffage de 100° C pendant 10 min (destruction des antigènes K).

Le seul antigène d'enveloppe reconnu chez les salmonelles est l'antigène Vi (de virulence), qui n'a été identifié que chez trois sérovars : *S.thyphi*, *S.paratyphi C* et *Dublin* (**EUZEBY, 1982 ; RYCROFT, 2000**).

3.4. Les antigènes de surface F :

Les pili ou fimbriae, disposés autour de la bactérie permettent à cette dernière :

- D'adhérer aux cellules épithéliales : l'antigène F est une adhésine.
- De se fixer à la surface des hématies et de les agglutiner : l'antigène F est une hémagglutinine

Staphylococcus aureus :

1. Historique :

L'histoire de Staphylococcus aureus dans le domaine aviaire remonte à plusieurs décennies. Au fil du temps, cette bactérie à Gram positif a été identifiée chez différentes espèces d'oiseaux, dont les poules, les dindes et les canards. Les premiers rapports datant des années 1960 et 1970 faisaient état de la présence de Staphylococcus aureus chez les oiseaux, principalement associée à des infections cutanées et à des lésions dermatologiques chez les oiseaux de basse-cour.

Au cours des années 1980 et 1990, des études ont approfondi notre compréhension du potentiel pathogène opportuniste de Staphylococcus aureus chez les oiseaux. Ces recherches ont mis en évidence que la bactérie pouvait causer des infections chez les individus immunodéprimés ou soumis à des facteurs de stress tels que des conditions d'élevage défavorables. (**Graveland, 2008**).

Depuis les années 2000, des enquêtes épidémiologiques approfondies ont été réalisées pour évaluer la prévalence de *Staphylococcus aureus* dans les élevages aviaires commerciaux et les populations d'oiseaux sauvages. Ces études ont révélé que la bactérie pouvait coloniser différentes parties du corps des oiseaux, notamment la peau, les muqueuses et les voies respiratoires.

Au cours de la dernière décennie, l'émergence de souches résistantes de *Staphylococcus aureus*, telles que le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA), a suscité des préoccupations croissantes dans le domaine aviaire. Des études ont démontré que les oiseaux de ferme, tels que les poules pondeuses et les dindes, pouvaient être porteurs de MRSA, ce qui soulève des inquiétudes quant à la transmission potentielle de la bactérie aux humains (Graveland, 2008).

Cette revue de la littérature sur l'historique de *Staphylococcus aureus* dans le domaine aviaire permettra de mieux comprendre l'évolution de cette bactérie et ses implications pour la santé animale et la santé publique.

2. Caractères bactériologiques :

Souches typiques de *Staphylococcus aureus* :

2.1.1. Caractères cultureux :

Staphylococcus aureus forme des colonies rondes, convexes et souvent pigmentées (oranges à dorées) sur les milieux de culture solides.

Les colonies peuvent présenter une opacité variable, allant de translucide à opaque.

2.1.2. Caractères morphologiques :

Staphylococcus aureus se présente sous forme de cocci (bactéries sphériques) arrangés en grappes irrégulières.

Les cellules individuelles de *Staphylococcus aureus* sont généralement de petite taille, d'environ 0,5 à 1,5 micromètre de diamètre.

2.1.3. Caractères biochimiques :

Catalase positive : *Staphylococcus aureus* produit l'enzyme catalase, ce qui se manifeste par la formation de bulles d'oxygène lorsqu'on lui ajoute du peroxyde d'hydrogène.

Coagulase positif : Certaines souches de *Staphylococcus aureus* sont coagulase positives, ce qui signifie qu'elles produisent l'enzyme coagulase capable de provoquer la coagulation du plasma sanguin.

Fermentation des sucres : *Staphylococcus aureus* est fermentatif et peut métaboliser divers sucres, tels que le glucose, le mannitol et le maltose, produisant de l'acide lactique.

Production d'enzymes : *Staphylococcus aureus* est connu pour produire diverses enzymes, notamment des lipases, des protéases et des hyaluronidases.

3. Propriétés antigéniques :

3.1. Les antigènes somatiques O :

Les antigènes somatiques O, également appelés antigènes de paroi ou antigènes de surface, sont des composants présents dans la structure de la paroi cellulaire de *Staphylococcus aureus*. Ils peuvent être utilisés pour différencier les différentes souches de *Staphylococcus aureus* et pour les classer en différents sérotypes.

3.2. Les antigènes flagellaires H :

Contrairement à certaines autres bactéries, *Staphylococcus aureus* n'est généralement pas flagellé et ne possède pas d'antigènes flagellaires H.

3.3. Les antigènes capsulaires K ou Vi :

Certaines souches de *Staphylococcus aureus* peuvent produire une capsule polysaccharidique qui leur confère une certaine résistance aux mécanismes de défense de l'hôte. La présence de ces antigènes capsulaires, également connus sous le nom d'antigènes K ou Vi, peut être utilisée pour identifier certaines souches spécifiques de *Staphylococcus aureus*.

3.4. Les antigènes de surface F :

Les antigènes de surface F sont des protéines présentes à la surface de *Staphylococcus aureus*. Ces protéines jouent un rôle dans l'adhésion aux cellules hôtes et peuvent être impliquées dans la virulence de la bactérie. Différentes souches de *Staphylococcus aureus* peuvent exprimer différents types d'antigènes de surface F, ce qui contribue à leur diversité antigénique.

Chapitre 3 : l'olivier

1. L'olivier :

L'olivier (*Olea europaea* L.) (Figure1) est la principale espèce cultivée de la famille des oléacées (*Oleaceae*), qui compte 30 genres et 600 espèces différentes. Les régions tempérées et tropicales de Malaisie et d'Asie offrent les meilleures conditions de croissance pour les oliviers. Le nom de genre *Olea* provient du mot grec "élasia", bien qu'il soit connu sous 80 noms différents. Le genre *Olea* comprend environ 30 à 35 espèces et est réparti en Asie, en Afrique, en Europe et en Océanie. *O. europaea* L. est la seule espèce comestible du genre *Olea*.

Le bassin méditerranéen est la région traditionnelle pour la culture de l'olivier et abrite 95 % des vergers d'oliviers dans le monde. Les feuilles d'olivier (*O. europaea* L.) ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels, sous forme d'extraits, de tisanes et de poudre, dans les pays méditerranéens et européens.

Différents cultivars d'oliviers peuvent être distingués les uns des autres par la couleur et la forme des fruits (drupe), la composition de l'huile, la morphologie des feuilles et la phénologie. Il existe 42 caractéristiques principales de la morphologie des fruits, des feuilles et des noyaux qui sont utilisées pour identifier les cultivars. Les olives peuvent être cultivées à des fins alimentaires ou pour la production d'huile. L'olivier est une espèce à croissance lente et extrêmement longue, avec une durée de vie pouvant atteindre 1000 ans (**Mushtaq et al., 2020**).

2. Historique :

L'olivier est un arbre de la famille des oléacées qui est principalement cultivé dans le bassin méditerranéen depuis au moins 3500 avant notre ère. Dans l'Antiquité grecque et romaine, il était considéré comme un symbole de fertilité, de paix et de gloire. Le nom scientifique de l'arbre, "*Olea*", provient d'un mot grec qui signifiait "huile" à l'époque de la Grèce antique. La culture de l'olivier trouve ses origines le long de la frontière entre l'Iran et la Syrie (**Nora et al., 2012**).

Dans la culture arabo-musulmane, l'olivier occupe une place spéciale en raison de sa mention dans le Coran. Il est considéré comme un arbre béni et respecté. Les références à l'olivier dans le Coran soulignent ses bienfaits et ses vertus. Ces mentions sont également soutenues par des études scientifiques modernes. L'huile d'olive, extraite des olives de l'olivier, est un élément important de l'alimentation méditerranéenne et est souvent associée à des bienfaits pour la santé. Des recherches scientifiques ont en effet montré que l'huile d'olive possède des propriétés bénéfiques pour le système cardiovasculaire, grâce à sa teneur en acides gras monoinsaturés et en antioxydants (**Bardoulat, 2004**).

3. L'olivier dans le monde :

L'olivier est cultivé dans diverses régions tropicales et tempérées à travers le monde, situées entre les latitudes 30° et 45° dans les deux hémisphères. Ces régions comprennent l'Amérique (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), l'Australie, la Chine, le Japon, l'Afrique du Sud, ainsi que de nombreux autres pays (**Breton et al., 2006**).

La superficie mondiale consacrée à la culture de l'olivier est estimée à environ 11,2 millions d'hectares, avec un nombre approximatif de 1,5 milliard d'oliviers. Ces chiffres soulignent l'importance de l'industrie

Oléicole à l'échelle mondiale.

4. L'olivier en Algérie :

En Algérie, l'olivier est effectivement l'une des principales espèces fruitières cultivées, tout comme dans la plupart des autres pays méditerranéens. La superficie oléicole en Algérie est estimée à environ 350 000 hectares, ce qui représente une part significative du paysage agricole. Selon les chiffres que vous avez fournis, l'Algérie compte environ 23 millions d'arbres d'oliviers. Cette quantité d'arbres témoigne de l'importance de la culture de l'olivier dans le pays. En effet, l'olivier occupe plus de 50 % du patrimoine arboricole national en Algérie **(Missat, 2015)**.

L'olivier en Algérie est principalement cultivé sur les zones côtières du pays, à une distance de 8 à 100 km de la mer. Ces régions offrent des conditions favorables au développement de l'olivier. En 2009, la superficie oléicole en Algérie était de 310 000 hectares. La majorité des surfaces oléicoles se trouvent dans les régions de montagne et les collines, couvrant une superficie de 195 000 hectares. De plus, les plaines occidentales du pays et les vallées, telles que la vallée de la Soummam, abritent également des plantations d'olivier **(ITAF, 2008)**.

L'utilisation des feuilles d'olivier dans divers domaines est en effet de plus en plus étudiée et appréciée. Voici quelques domaines dans lesquels les feuilles d'olivier trouvent une utilisation précieuse :

Domaine alimentaire : Les feuilles d'olivier sont utilisées depuis longtemps comme aliment pour le bétail, en particulier les ovins et les caprins. Elles peuvent être consommées fraîches, séchées ou sous forme de fourrage. Elles sont riches en fibres et en composés nutritifs, ce qui en fait une source de nutr

Partie expérimentale

Objectif :

Nous avons pour objectif de tester les extraits de feuilles d'olivier sur Salmonella et E. coli à l'aide d'un test d'antibiogramme, en utilisant des disques imprégnés d'extraits d'olivier. Notre but est d'évaluer leur efficacité en tant qu'alternative aux antibiotiques dans le traitement des volailles, afin de protéger les consommateurs de l'antibiorésistance.

Matériels et méthodes :

1. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et à l'olivier

1.1 L'antibiogramme :

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, elle a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'ENSV. Le milieu de culture utilisé est **Muller-Hinton** qui est le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens.

Préparation de l'inoculum

La méthode consiste à préparer une suspension, nous allons prélever à partir d'une culture pure, cinq (05) colonies des souches d'Escherichia coli et Salmonella bien isolées à l'aide d'une anse de platine, puis nous allons les introduire dans les tubes à essai contenant **10 ml** d'eau physiologique stérile (NaCl à 0.9 %). La suspension est bien homogénéisée et l'opacité doit être équivalente à **0.5 Mc Farland** (10^7 à 10^8). Voir tableau ci-dessous :

Tableau 4 : représente tous les molécules utilisés

E coli	Salmonella	Molécules D'antibiotiques testées
EMB LOT 7	SS LOT 7	Chloramphénicol, Ampicilline, amoxiciline+chlav , Néomycine, Colistine Nitrofurantoine
EMB 06	SS 10 R	
EMB 03	SS 9	
EMB 9	SS 03	
EMB 1	SS BTN	
EMB 2	ATCC	

L'ensemencement

L'ensemencement est réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne puis essoré en le pressant fermement sur les parois du tube, Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas, en stries serrées, trois fois en tournant la boîte de **60°** à chaque fois.

Application des disques d'antibiotiques

Nous avons déposé des disques d'antibiotiques (tableau,,,)) dans les 12 boîtes de Pétri qui ont été ensemencées préalablement avec les 12 souches testées. Incubation pendant 24h à 37°C.

Lecture et interprétation

Elle se fait à l'aide des échelles de concordance

Droite de concordance

L'antibiotique diffuse en profondeur puis latéralement à partir du disque pré-imprégné d'une quantité connue d'antibiotique (appelée charge du disque) en créant un gradient de concentration standardisé.

Il existe pour chaque antibiotique une relation linéaire entre le logarithme de la concentration en antibiotique et le diamètre du cercle concentrique au disque d'antibiotique appelée droite de concordance. Ce sont des échelles de concordances établis sous forme de tables (**voir annexe**).

Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide du pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture (échelle de concordance).
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.
-

1.4.2 Extraction du produit (feuille d'olive)

Voici les étapes que j'ai suivies pour réaliser cette extraction :

- 1. Préparation de l'échantillon :** J'ai préparé mon échantillon contenant les composés phénoliques en le broyant finement pour augmenter la surface de contact.



Figure 4 : Représente la farine des feuilles d'olivier

- 2. Préparation du solvant :** J'ai préparé une solution d'éthanol à une concentration appropriée, généralement 70%.



Figure 5 : Présente la farine et le solvant

- 3. Extraction :** J'ai placé l'échantillon broyé dans un récipient et j'ai ajouté suffisamment de solution d'éthanol pour le recouvrir complètement. J'ai ensuite mélangé doucement pour assurer une extraction efficace des composés phénoliques.



Figure 6 : photo présente extraction des composés phénoliques

- 4. Macération :** J'ai laissé l'échantillon reposer dans le solvant pendant plusieurs heures, permettant aux composés phénoliques de se diffuser dans le solvant.

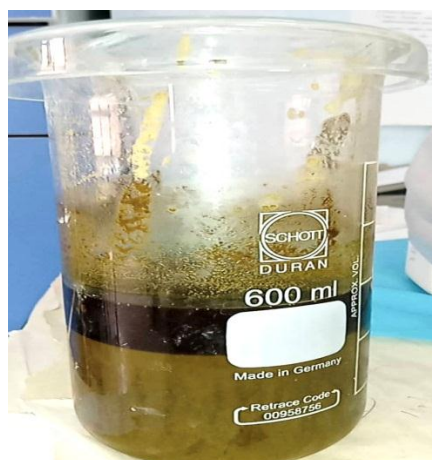


Figure 7 : photo présente la macération des composés

- 5. Filtration :** Après la macération, j'ai filtré la solution en utilisant un entonnoir et un papier filtre pour séparer les résidus solides des composés phénoliques.



Figure 8 : photo présente la filtration des composés phénoliques

Evaluation de l'activité antimicrobienne du produit

1. L'aromatogramme

La méthode des aromatogrammes est la technique choisie pour évaluer l'activité antimicrobienne de produit extrait de l'olive vis-à-vis des souches *D'E coli* et de *Salmonella*

Cette analyse a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'ENSV.

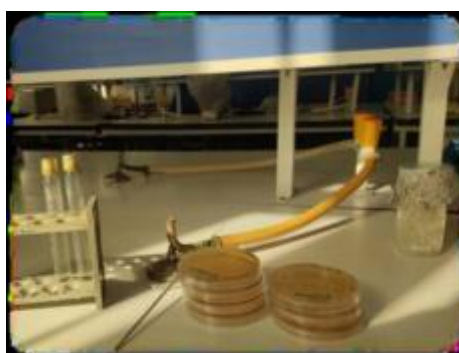


Figure 9 : Préparation des boîtes de Mueller Hinton pour la technique d'aromatogramme.

Préparation de l'inoculum

A partir des boîtes contenant les germes pathogènes nous avons préparé des suspensions pour chaque espèce étudiée. A l'aide d'une anse de platine nous avons prélevé cinq (05) colonies pour *Escherichia coli* et *Salmonella*. Ces colonies ont été déposées dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile. La concentration est équivalente à **0.5 Mc Farland**. Le tube est porté au vortex pour une meilleure répartition des cellules bactériennes dans l'eau physiologique.

L'ensemencement

Sur des boîtes de Pétri contenant le milieu *Mueller Hinton* l'ensemencement est réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne. Nous avons répété l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois puis nous avons laissé la boîte sécher pendant 5 minutes à températures ambiante sur le même principe que la méthode de l'antibiogramme.

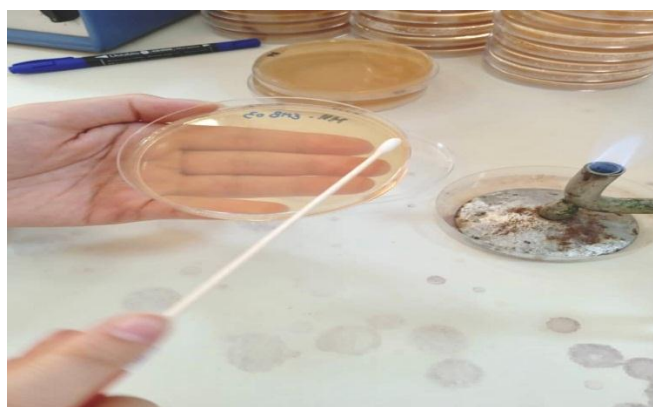


Figure 10 : photo présente l'ensemencement des échantillons

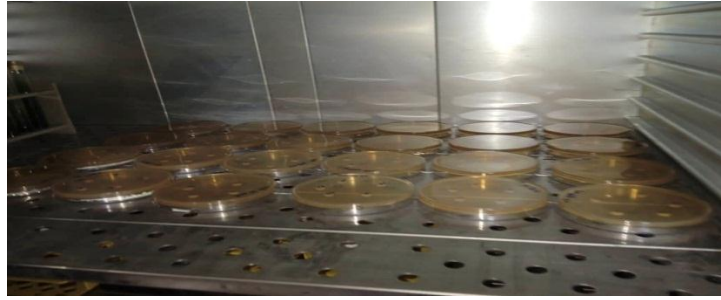
Préparation des disques d'aromatogramme

Les disques sont fabriqués à partir du papier buvard (Wattman) stérile avec un diamètre de 6 mm,

L'incubation et lecture

Les boîtes préparées sont incubées à 37°C durant 24 heures. Les résultats sont exprimés, en mesurant les diamètres des plages claires qui correspondent aux zones d'inhibition formés autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse.

Figure 11 : photo présente l'étape de l'incubation

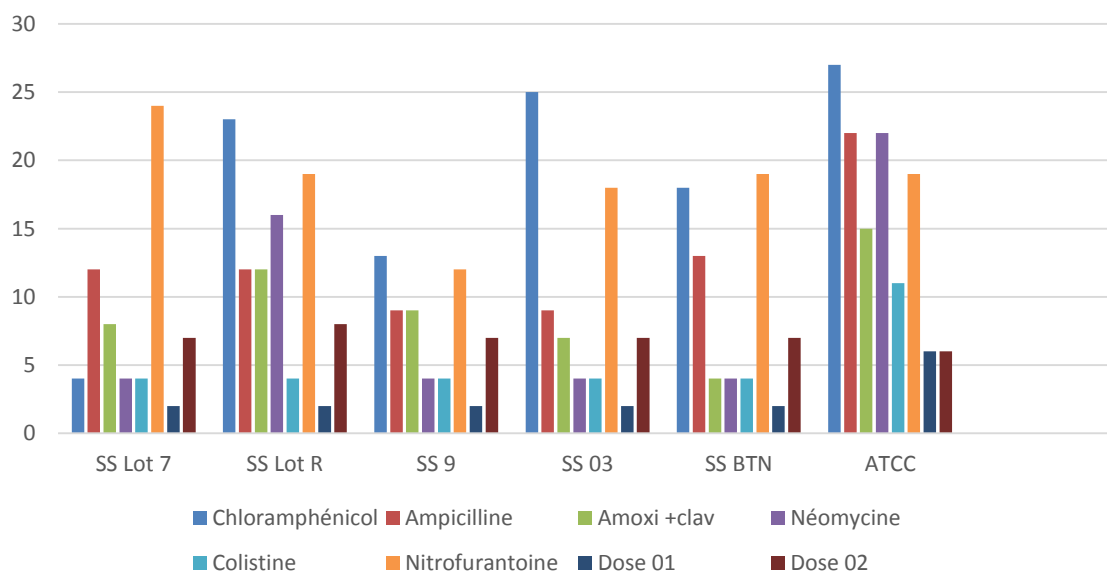


Résultats :

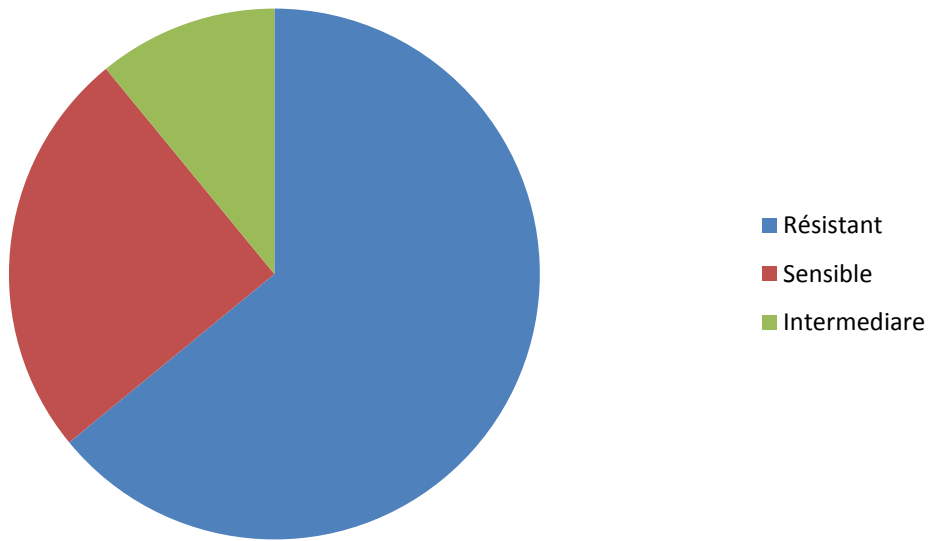
I.	Chloramphénicol	Ampicilline	Amoxi +clav	Néomycine	Colistine	Nitrofurantoïne	Dose 01	Dose 02
EMB Lot 7	R : 6 mm	R : 4 mm	R : 4 mm	R : 11 mm	R : 5 mm	S : 18 mm	1 mm	8 mm
EMB 06	S : 18 mm	R : 5 mm	R : 4 mm	I : 16 mm	S : 13 mm	S : 21 mm	6 mm	6 mm
EMB 03	R : 3 mm	R : 4 mm	R : 4 mm	R : 10 mm	S : 12 mm	R : 13 mm	6 mm	6 mm
EMB 9	S : 19 mm	R : 11 mm	R : 8 mm	S : 18 mm	R : 4 mm	R : 7 mm	6 mm	6 mm
EMB 1	R : 6 mm	R : 4 mm	R : 4 mm	R : 10 mm	S : 23 mm	S : 20 mm	2 mm	7 mm
EMB 2	S : 22 mm	R : 7 mm	R : 4 mm	I : 15 mm	S : 14 mm	R : 6 mm	6 mm	6 mm
SS Lot 7	R : 4 mm	R : 12 mm	R : 8 mm	R : 4 mm	R : 4 mm	S : 24 mm	2 mm	7 mm
SS Lot R	S : 23 mm	R : 12 mm	R : 12 mm	I : 16 mm	R : 4 mm	S : 19 mm	2 mm	8 mm
SS 9	I : 13 mm	R : 9 mm	R : 9 mm	R : 4 mm	R : 4 mm	R : 12 mm	2 mm	7 mm
SS 03	B : 25 mm	R : 9 mm	R : 7 mm	R : 4 mm	R : 4 mm	S : 18 mm	2 mm	7 mm
SS BTN	R : 18 mm	R : 13 mm	R : 11 mm	R : 4 mm	R : 4 mm	S : 19 mm	2 mm	7 mm
ATCC	S : 27 mm	R : 22 mm	I : 15 mm	S : 22 mm	S : 11 mm	S : 19 mm	6 mm	6 mm

Tableau : présente les résultats de nos souches

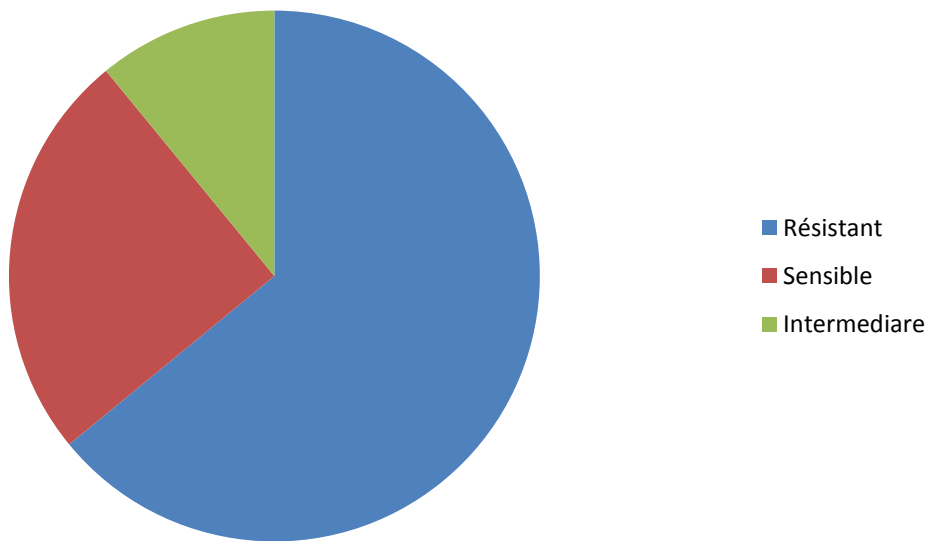
Histogramme de la réactions de nos souches

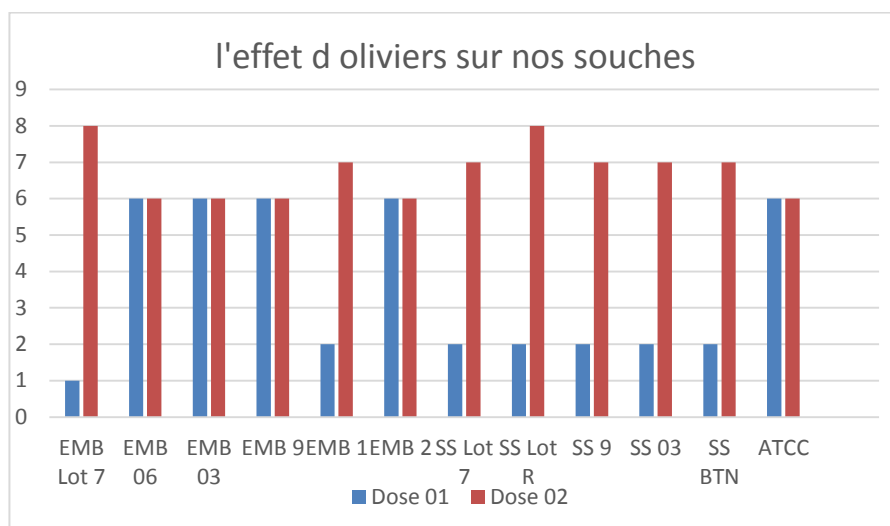


la resistance des souche sellmonela



la résistance des souches e,coli





Discussion :

-Plusieurs études ont montré que des extraits de plantes utilisées en médecine traditionnelle pourraient fournir des composés agissant sur de nouveaux récepteurs avec un nouveau mécanisme d'action contre les souches pathogènes multi-résistantes (**Clements et al., 2002 ; Ballel, 2005**).

-Selon Aliabadi et al. (2012), les extraits de feuilles d'olive ont montré de bons effets inhibiteurs sur les bactéries pathogènes. Markin et al. (2003) ont également signalé que l'extrait de feuille d'olivier avec une concentration de 0,6 % (w/v) a tué *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *K. pneumonia* dans l'exposition à 3 heures. D'autre part, *B. cereus* n'a été inhibé que lorsque la concentration a été augmentée à 20 % (w/v) et cela peut être due à la capacité de formation des spores dans cette espèce.

-Dans une autre étude, Korukluoglu et al. (2010) ont étudié l'effet du solvant d'extraction sur l'efficacité antimicrobienne sur *S. aureus*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*. Ils ont rapporté que le type de solvant a affecté la distribution et la concentration phénolique dans les extraits, et l'activité antimicrobienne contre les bactéries testées. L'extrait des feuilles d'olivier par l'éthanol a montré l'efficacité antibactérienne la plus élevée contre *E. coli* et *S. enteritidis*. Cependant, l'extrait par l'acétone a montré l'efficacité la plus élevée contre *S. typhimurium* (**Korukluoglu et al., 2010**).

-Dans l'étude d'Owen et al. (2003), les composés phénoliques contenus dans l'extrait de feuille d'olive ont montré des activités antimicrobiennes contre plusieurs micro- Organismes, dont : *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *S. typhi* et *V. parahaemolyticus*. Dans cette étude, l'extrait aqueux de feuille d'olive a montré de bonnes capacités antimicrobiennes et l'inhibition la plus élevée de 11,5 mm contre *Salmonella typhimurium*.

-Les effets antimicrobiens des phénols issus de l'olive, l'huile d'olive et les feuilles de l'olivier ont été le sujet de différentes recherches qui confirment l'effet antimicrobien des polyphénols. Il a été établi que les sécoiridoïdes (oleuropéine et ses dérivés), une des classes principales de polyphénols contenues dans l'olive, l'huile d'olive et feuilles d'olivier, empêche ou retarde le taux de croissance d'une gamme de bactéries et de microchampignons (**Farhi, 2009**). Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) calculées présentent une preuve d'une large activité antimicrobienne de l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine contre les souches bactériennes étudiées (**Djenane et al., 2012**).

-Les composés phénoliques sont reconnus d'être synthétisés par les plantes en réponse à l'infection microbienne (**Boulekbache et al., 2013**). En effet, ils sont les principaux composés antimicrobiens des plantes, possédants des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes. L'intensité et le spectre d'activité antimicrobienne varient selon la bactérie et le type d'extrait et le type de bactéries (Djenane et al., 2012).

-L'action antibactérienne des phénols est liée à leurs capacités à dénaturer les protéines et sont généralement classés comme agents agissant en surface (**Casas-Sanchez et al., 2007**). Leur action conduirait à la fuite des constituants cellulaires des bactéries tels que les protéines, le potassium et le phosphate.

-Les mécanismes d'action des composés naturels sont liés à la désintégration de la membrane cytoplasmique, la déstabilisation de la force motrice des protons, le flux d'électrons, le transport actif et la coagulation du contenu des cellules (Figure 10). Les polyphénols agissent par privation de substrat, rupture de la membrane et de la paroi cellulaire **(Silva et Fernandes Júnior, 2010)**.

Conclusion :

En conclusion, la résistance élevée observée chez *E. coli* et *Salmonella* constitue une préoccupation majeure en matière de santé publique. Ces bactéries pathogènes sont devenues résistantes à de nombreux antibiotiques couramment utilisés, ce qui complique leur traitement et augmente les risques pour la santé humaine. Cette résistance est le résultat de l'abus et de l'utilisation inappropriée d'antibiotiques dans les élevages. Ceci explique pourquoi les huiles des feuilles d'olivier n'ont pas démontré d'efficacité antibactérienne contre ces souches.

Les résultats du test d'antibiogramme ont démontré le manque d'efficacité de l'huile de feuille d'olivier en tant qu'alternative aux antibiotiques contre les souches bactériennes étudiées. Bien que les extraits de feuilles d'olivier aient montré des propriétés antimicrobiennes prometteuses dans d'autres études, il est important de reconnaître que chaque souche bactérienne peut réagir différemment aux traitements.

De plus, il est possible que le manque d'efficacité observé soit lié à notre méthode d'extraction classique. Étant donné que notre objectif était de privilégier une méthode simple et facile à réaliser, il est recommandé d'utiliser une méthode d'extraction plus avancée pour obtenir de meilleurs résultats. L'utilisation d'une méthode plus sophistiquée et perfectionnée pourrait permettre une extraction plus complète des composés actifs présents dans l'huile de feuille d'olivier, améliorant ainsi son potentiel antibactérien.

L'absence d'effet antimicrobien dans ce contexte spécifique souligne la complexité de l'antibiorésistance et la nécessité de recherches plus approfondies pour développer des alternatives efficaces aux antibiotiques dans le traitement des infections bactériennes. Il est important de continuer à explorer d'autres options et approches thérapeutiques pour lutter contre l'antibiorésistance et garantir la santé et la sécurité des animaux et des humains.

Les références

- **Bisignano G**, Tomaino A, Lo Cascio R, Crisafi G, Uccella N, Saija A.
- **(ECL,2004)**. <http://www.ecl-lab.ca/fr/ecoli/index.asp.137b> :211-243
- **Cowan MM**. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microb. Rev. Vol. 12. (1999). pp. 564-582.
- **Demir, E.** et al.(2003)The use of natural feed additives as alternatives for an antibiotic growth promoter in broiler diets. British Poultry Science, 44(sup1), pp.44–45.
- **Drancourt M. Klebsiellapneumoniae. In Freney J, Renaud F, Leclerecq R, Riegel P., 2007.** Précis de bactériologie clinique, Edition ESKA ;1111-1114.
edpolytechnica.paris.
- **El-Banna H**, Abd-ElLatif A, Soliman, M (2013) Anticoccidial Activity of Allium Sativum and Aloe Vera in Broilers. IJAVMS, 7(4), pp.117–125.
- **Escherich T., 1885: Die Darmbacterium des Neugeborenen und Säuglings. Fortschritte der**
- **Escherich T., 1885: Die Darmbacterium des Neugeborenen und Säuglings. Fortschritte der**
Escherichia coli 0157 lipopolysaccharide in hemolytic-uremic syndrome patients and healthy
- **Farmer JJ., 3rd, Davis BR., Hichman-Brenner FW., McWhorter A., Huntley-Carter GP.,Asbury MA., Riddle C, Wathen-Grady HG., Elias C, Fanning GR., 1985:**
Biochemicalidentification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J ClinMicrobiol. 21, 46-76.
- **FARMER., 1999.***Enterobacteriaceae: Introduction and identification.*In : Manual of clinical Microbiology, P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, Tenover F.C. and R.H. Tenover (ed7th ed. American Society for Microbiology, Washington DC :442-458.
- **Freney J, Croze M., 2007.**Entérobactériaceae-généralités. In Freney J, Renaud F, Leclerecq R, Riegel P . Précis de bactériologie clinique, Edition ESKA ; 979-798.
- **Freney J, Croze M., 2007.**Entérobactériaceae-généralités. In Freney J, Renaud F, Leclerecq R, Riegel P . Précis de bactériologie clinique, Edition ESKA ; 979-798.
- **Greathouse JS., Thorne GM., 1994: Humoral immune responses to Shiga-like toxins and**
- **Grimont PAD., 1987: Taxonomic des Escherichia.** Med. Mal Infect (Numerospecial). 17. 6-10.
- **GRIMONT., 2000 : Les marqueurs epidemiologiques des salmonella.**
- **HUMBERT.,1998 : Les salmonelloses dans le manuel de bacteriologiealimenaire**
isolées en France. Rapport de stage. Unité Biodiversité Bactéries Pathogènes Emergentes. Centrenational de référence des Escherichia coli et Shigell. 1-39pages.
- **LE MINOR et VERON.,1989 : Taxonomie des salmonella. annales de microbiologie**
- **Levine MM., 1984: Escherichia coli infections,** hi: Germanier R., Bacterial vaccines, academicPress, New York, 187-235.
- **Levine MM., 1987: Escherichia coli that cause diarrhea. Enterotoxigenic, Enteropathogenic,Enteroinvasive, Enterohcmorrhagic, and cnteroadhcrcnt. J Inf Dis,** 155, 377-380. Medizin. 3: 515.

- **Messai Chafik Redha, 2010 :** *Fréquence et profils d'antibiorésistances des souches Escherichiacoli isolées de poulets de chair atteints de colibacillose à l'abattoir avicole de setif*. Thèse del'école nationale supérieure vétérinaire- Alger.
Microbiologieclinique.<https://microbiologie-clinique.com/gelose-emb.html>
Microbiologiemédicale. <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-mac-conkey/>
- **Orskov F., Genus I., 1986:** *Escherichia Castellani and Chalmers, 1919, 941 AL. hi: N. R. Kriegand J. G Hold (eds). Bcrgcy's manual of systematic bacteriology*. Vol 1, the Williams and Wilkins Co, Baltimore
- **Pereira A,** Ferreira ICFR, Marcelino F, Valentão P, Andrade PB, Seabra R, Estevinho L, Bento A, Pereira JA (2007) Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecules*, 12(5), pp.1153–1162.
<http://www.mdpi.com/1420-3049/12/5/1153/>.
- **Pourakbari M,** Seidavi A, Asadpour L, Martínez A (2016) Probiotic level effects on growth performance , carcass traits , blood parameters , cecal microbiota , and immune response of broilers. *Annals of the Brazilian Academy of sciences*, pp.1–11.
- **Richard C, 1989:** *Bactériologie et epidemiologic des souches typiques, atypiques etpotentiellement pathogènes d'Escherichia coli*. *Information du Technicien biologiste* 2: 45-52
- **Shafey TM,** Al-Ruqaei IM, Almufarij SI (2013) Effect of feeding olive leaves extract (oleuropein) on the performance, nutrient utilization, small intestine and carcass characteristics of broiler chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 12(6), pp.740–746.
- **Su C , Brandt L.J., 1995:** *Escherichia coli 0157: H7 infection in humans*. *Ann IntMed*, 123, 698-714. *subjects. J Clin Microbiol*32, 1172-1178.
- **Sudjana AN,** D'Orazio C, Ryan V, Rasool N, Ng J, Islam N, Riley TV et Hammer KA. Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *I. J. Antimicrob. Agents*. Vol. 33. (2009). pp. 461-463.
- **Tap J., 2004 :** *Caractérisation moléculaire des Escherichia coli 011 let diversité des souches techmicrobio.eu*.<http://www.techmicrobio.eu/index.php/35-microbio/systematique-bacterienne>.
- **Vázquez RS** (2015) Performance of broiler chickens supplemented with Mexican oregano oil (*Lippia berlandieri* Schauer). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 44(8), pp.283–289.
- **Zaghloul S,** Mohamed, El-Damarawy KM, Fares W (2013) Dietary Olive Leaf and Antioxidative Status in Chickens - Engormix. *Poultry industrie*.

Résumé :

Au cours des dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour l'utilisation de produits naturels comme additifs alimentaires (herbes, extraits de plantes et huile essentielle) et promoteurs de bio-croissance (Demir et al. 2003 ; El-Banna et al. 2013 ; Pereira et al. 2007 ; Vázquez 2015 ; Pourakbari et al. 2016) comme l'extrait de feuilles d'olivier (Al-Ruqaeil et al. 2013 ; Shafey et al. 2013 ; Zaghloul et al. 2013). Des extraits de feuilles d'olivier sont préparés et l'effet antimicrobien de ces composés est déterminé par la méthode de diffusion sur gélose vis-à-vis de deux bactériennes. Il semble que toutes les souches testées (E coli avec EMB LOT 7, EMB 06, EMB 03, EMB 9, EMB1 et EMB 2, ainsi que Salmonella avec SS LOT 7, SS 10 R, SS 9, SS 03, SS BTN, et ATCC) ont toutes développées des résistances vis-à-vis aux molécules d'antibiotiques utilisées en l'occurrence Chloramphénicol, Ampicilline, Amoxicilline + clavulanique, Néomycine, Colistine, et la Nitrofurantoïne. Nos résultats du test d'antibiogramme ont démontré le manque d'efficacité des extraits des feuilles d'olivier en tant qu'alternatives biologique aux antibiotiques contre les souches bactériennes étudiées. Bien que les extraits de feuilles d'olivier aient montré des propriétés antimicrobiennes prometteuses dans d'autres études.

Mots clés : Feuilles olivier, Extrait brut, Pathogènes, Activité antibactérienne, Salmonella, E.Coli

Abstract

In recent years, there has been an increasing interest in the use of natural products as food additives (herbs, plant extracts and essential oil) and bio-growth promoters (Demir et al. 2003; El-Banna et al. 2013; Pereira et al. 2007; Vázquez 2015; Pourakbari et al. 2016) such as olive leaf extract (Al-Ruqaeil et al. 2013; Shafey et al. 2013; Zaghloul et al. 2013). Extracts of olive leaves are prepared and the antimicrobial effect of these compounds is determined by the agar diffusion method against two bacteria. It seems that all the strains tested (E coli with EMB LOT 7, EMB 06, EMB 03, EMB 9, EMB1 and EMB 2, as well as Salmonella with SS LOT 7, SS 10 R, SS 9, SS 03, SS BTN, and ATCC) have all developed resistance to the antibiotic molecules used in this case Chloramphenicol, Ampicillin, Amoxicillin + clavulanic, Neomycin, Colistin, and Nitrofurantoin. Our antibiogram test results demonstrated the lack of efficacy of olive leaf extracts as biological alternatives to antibiotics against the bacterial strains studied. Although olive leaf extracts have shown promising antimicrobial properties in other studies.

Keywords : Olive leaves, Crude extract, Pathogens, Antibacterial activity, Salmonella, E.Coli

ملخص :

في السنوات الأخيرة ، كان هناك اهتمام متزايد باستخدام المنتجات الطبيعية كمضافات غذائية (أعشاب ومستخلصات نباتية وزيت Vázquez 2015؛ Pereira et al. 2007؛ Vázquez 2015؛ البنا وآخرون 2013 ؛ عطري) ومحفزات للنمو الحيوي Pourakbari et al. 2016) مثل مستخلص أوراق الزيتون (Al-Ruqaeil et al. 2013؛ Shafey et al. 2013؛ Zaghloul et al. 2013). يتم تحضير مستخلصات أوراق الزيتون ويتم تحديد التأثير المضاد للميكروبات لهذه المركبات عن طريق طريقة نشر (2013). EMB 03 و EMB 06 و EMB LOT 7 إي كولاي مع) الآجار ضد نوعين من البكتيريا. يبدو أن جميع السلالات التي تم اختبارها (ATCC ، و SS 03 و SS 9 و SS 10 R و SS LOT 7 بالإضافة إلى السالمونيلا مع EMB 2 و EMB 1 و EMB 9 و Chloramphenicol و Ampicillin و Amoxicillin + clavulanic و Neomycin و Colistin و Nitrofurantoin. جميعها مقاومة لجزيئات المضادات الحيوية المستخدمة في هذه الحالة أظهرت نتائج اختبار المضادات الحيوية لدينا عدم فعالية مستخلصات أوراق الزيتون كبدائل بيولوجية للمضادات الحيوية ضد السلالات البكتيرية التي تمت دراستها. على الرغم من أن مستخلصات أوراق الزيتون أظهرت خصائص واعدة في مضادات الميكروبات في دراسات أخرى.

الكلمات المفتاحية: أوراق الزيتون، المستخلص الخام، العوامل الممرضة، النشاط المضاد للبكتيريا، السالمونيلا، الإشريكية القولونية