



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**Derrar sarra**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité : Microbiologie fondamentale**

THÈME

*Activité antibactérienne de l'extrait méthanoïque de  
la Camomille 'Chamaemelum nobile L' sur les  
souches bactériennes responsable des Toxi-  
infections alimentaires*

Soutenue publiquement le 07/ 07 /2021

DEVANT LE JURY

Président	M. Ait saada Djamel	MCA	U. Mostaganem
Encadreur	Pr. Bekada Ahmed	Pr	U. Mostaganem
Examinatrice	Mme Ait chaabane Ouiza	MCA	U. Mostaganem

*Année Universitaire 2020 - 2021*

# Remerciements

---

Grand et respectueux remerciement va au **M. Ait saada** d'avoir accepté de présider le jury de mon mémoire. Je vous remercie surtout pour votre entretien, vos conseils ainsi que vos précieuses discussions.

Merci au membre du jury Mme. **Ait chaabane** pour leur présence nécessaire et utile au sein du jury.

De très précieux remerciements vont au Pr. **Bekada** qui n'a pas hésité de me venir humblement en aide, et de ne m'avoir jamais privé de son savoir.

Je n'oublie pas de remercier vivement les membres de l'équipe laborantine, en particulier M. **Abaad** et Mme. **Djazar** pour leur aide et soutien morale ainsi je remercie aussi tous mes collègues de la promotion 2020-2021 et les étudiants de master et je leur souhaite beaucoup de réussite.

# Dédicace



*C'est avec tous de mes sentiments que je dédie ce modeste travail à :*

*À ma très chère mère pour ton soutien et ton réconfort pendant toutes ces années d'études. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite.*

*En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, Je vous dédie  
aujourd'hui ma réussite.*

*Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je  
puisse te combler à mon tour.*

*À mon très cher père, Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes  
soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as  
su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la  
confiance en soi face aux difficultés de la vie. Ta patience sans fin, ta  
compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable  
que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et  
ce que je serai demain. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde  
santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

*À mes frères et ma sœur et ami d'enfance pour leurs aide, son  
encouragement et soutiens.*

*Dédicace à moi*

### Résumé

L'utilisation excessive d'antibiotiques est un facteur important qui contribue à l'apparition de différents types de microbes résistants. En conséquence ce phénomène conduit à une augmentation de la gravité des maladies causées par ces microbes ce qui nécessite la recherche de solutions à cette problématique.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Chamaemelum nobile* L, une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle de l'Algérie.

L'étude a porté sur l'effet antimicrobien de l'extrait méthanoïque de *chamaemelum nobile* L récolté dans la région de Mostaganem vis-à-vis d'*Escherichia coli* à l'origine de toxi-infections alimentaires. Les mesures en triples essais ont porté sur le test d'antibiogramme et les tests antimicrobiens des extraits méthanoliques vis-à-vis *E. coli* selon la méthode de contact direct et indirect. Les résultats montrent que *E. coli* est sensible à la gentamycine et l'extrait pur méthanolique de *Chamaemelum nobile* L exerce un fort pouvoir inhibiteur sur la croissance de ce germe, la méthode de diffusion des disques a révélé des zones d'inhibition qui varient de 6 à 15 mm.

**Mots clés :** *Chamaemelum nobile* L, extrait méthanoïque, *E. coli*, activité antimicrobienne, toxi-infections alimentaires.

## **Abstract**

Excessive use of antibiotics is an important factor that contributes to the emergence of different types of resistant microbes. Consequently, this phenomenon leads to an increase in the severity of diseases caused by these microbes, which requires the search for solutions to this problem.

The objective of this study is to evaluate the antibacterial activity of the methanoic extract of the aerial part of *Chamaemelum nobile L*, a medicinal plant from the traditional pharmacopoeia of Algeria.

The study investigated the antimicrobial effect of methanoic extract of *chamaemelum nobile L* collected in the region of Mostaganem against *Escherichia coli* causing food poisoning. The measurements in triple tests focused on the antibiogram test and the antimicrobial tests of methanolic extracts against *E. coli* by the direct and indirect contact method, the results show that *E. coli* is sensitive to gentamycin and the pure methanolic extract of *Chamaemelum nobile L* exerts a strong inhibitory power on the growth of this germ, the method of diffusion of the discs revealed zones of inhibition which vary from 6 to 15 mm.

**Key words:** *Chamaemelum nobile L*, methanoic extract, *E. coli*, antimicrobial activity, food poisoning.

### المخلص

الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية هو عامل مهم يساهم في ظهور أنواع مختلفة من الميكروبات المقاومة. وبالتالي تؤدي هذه الظاهرة إلى زيادة شدة الأمراض التي تسببها هذه الميكروبات مما يتطلب البحث عن حلول لهذه المشكلة. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الميثانولي للجزء الجوي من البابونج ، وهو نبات طبي من دستور الأدوية التقليدي في الجزائر.

بحثت الدراسة في التأثير المضاد للميكروبات لمستخلص الميثانولي لنبات البابونج الذي تم جمعه في منطقة مستغانم ضد الإشريكية القولونية المسببة للتسمم الغذائي. ركزت القياسات في الاختبارات الثلاثية على اختبار المضاد الحيوي واختبارات مضادات الميكروبات للمستخلصات الميثانولية ضد الإشريكية القولونية بطريقة الاتصال المباشر وغير المباشر. أظهرت النتائج أن الإشريكية القولونية حساسة للجنتاميسين وأن المستخلص الميثانولي النقي للبابونج يمارس قوة مثبطة قوية على نمو هذه الجرثومة ، وقد كشفت طريقة انتشار الأقراص عن مناطق تثبيط تتراوح من 6 إلى 15 مم.

**الكلمات المفتاحية :** البابونج ، مستخلص الميثانولي ، نشاط مضاد للميكروبات ، تسمم غذائي.

Liste des figures .....	I
Liste des tableaux.....	II
Liste des abréviations.....	IV
Résumé	
Introduction .....	1

### Partie bibliographique

#### Chapitre I: Généralités sur la plante camomille.

1. Généralités sur la famille des <i>Astéracées</i> .....	3
2. La grande camomille: <i>Chamaemelum nobile</i> L.....	3
2.1. Histoire de camomille.....	3
2.2. Classification.....	3
2.3. Description botaniques.....	4
2.4. Répartition géographique.....	4
2.5. Utilisation traditionnel.....	5
2.6. Composition chimique.....	5
2.7. Les principes actifs.....	5
2.7.1. Définition .....	5
2.7.2. Différents groupes des principes actifs .....	5
2.7.2.1. Huiles essentielles.....	5
2.7.2.2. Les composés phénoliques (polyphénols).....	6
2.7.2.2.1. Les principales classes de composés phénoliques.....	6
2.7.2.2.1.1. Acides phénoliques.....	7
2.7.2.2.1.2. Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque.....	7
2.7.2.2.1.3. Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique.....	7
2.7.2.2.1.4. Flavonoïdes.....	8
2.7.2.2.1.5. Les coumarines.....	8
2.7.2.2.1.6. Les sesquiterpènes lactones.....	8
2.8. Propriétés pharmacologiques.....	9

2.8.1. Action sur le système digestif.....	9
2.8.2. Problèmes de menstruation.....	9
2.8.3. Système nerveux.....	9
2.8.4. Action anti-inflammatoire.....	9
2.8.5. Activité anticancéreuse.....	9
2.8.6. Activité antimicrobienne.....	10

### Chapitre II : Généralités sur les toxi infections alimentaires

1. Généralités.....	11
2. Physiopathologie.....	11
3. Origine des TIA : Concept des 5 M.....	12
3.1. Les matières premières.....	13
3.2. Le matériel.....	13
3.3. Le milieu.....	14
3.4. Les méthodes.....	14
3.5. La main d'oeuvre.....	14
4. Épidémiologie.....	14
4.1. Au niveau mondial.....	15
4.2. En Algérie.....	15
5. Les principaux germes responsables des toxi-infections alimentaire.....	15
5.1. <i>Salmonella enterica</i> sérotype non <i>typhi</i> .....	15
5.1.1. Période d'incubation.....	15
5.1.2. Durée des symptômes.....	16
5.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
5.2.1. Période d'incubation.....	16
5.2.2. Durée des symptômes.....	16
5.3. <i>Shigella spp</i> .....	16
5.3.1. Période d'incubation.....	16
5.4. <i>Salmonella enterica</i> sérotype <i>typhie et paratyphi</i> .....	16
5.4.1. Période d'incubation.....	17



5.4.2. Durée des symptômes.....	17
5.5. <i>Campylobacter jejuni</i> et <i>E.coli</i> .....	17
5.5.1. Période d'incubation.....	17
5.5.2. Durée des symptômes.....	17
5.6. <i>Clostridium perfringens</i> .....	17
5.6.1. Période d'incubation.....	18

### Partie expérimentale

#### Chapitre III : Matériel et méthodes

1. Objectif .....	19
2. Matériel végétal .....	19
3. Matériel de laboratoire.....	19
3.1. Réactifs consommables et milieux de culture.....	19
3. 2. Matériel et appareils.....	19
4. Prélèvement des.....	20
5. Préparation de l'extrait.....	20
5.1. Broyage.....	20
5.2. Extraction des composés phénoliques.....	21
5.3. Préparation de l'extrait méthanolique.....	21
5.3.1. Macération.....	22
5.3.2. Filtration.....	22
5.3.3. Evaporation.....	22
5.3.4. Détermination du rendement d'extraction.....	23
6. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de <i>Chamaemelum nobile</i> L.....	24
6.1. La souche microbiennes testée.....	24
6.2. Conservation des souches.....	24
6.3. Milieux de culture.....	24
6.4. Préparation des extraits.....	24

## *Sommaire*

---

7. Méthode de contact direct.....	25
8. Méthode des disques par diffusion sur gélose (Méthode indirecte).....	27
8.1. Antibiogramme.....	27
8.2. Méthode de l'aromatogramme .....	28
9. Traitement statistique.....	30

### **Chapitre IV: Résultats et discussion**

1. Résultats de méthode de contact direct.....	31
2. Résultats de l'antibiogramme.....	32
3. Résultats des aromagrammes.....	32
4. Détermination du rendement de l'extraction.....	35
<b>Conclusion</b> .....	<b>36</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>37</b>

**Liste des figures**

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Structure de base des acides benzoïque et cinnamique	<b>7</b>
<b>Figure 2</b>	Structure de base des flavonoïdes	<b>8</b>
<b>Figure 3</b>	Mécanismes des toxi-infections alimentaires	<b>12</b>
<b>Figure 4</b>	Diagramme des causes et effets d'Ishikawa appliqué à la contamination des aliments par les microorganismes pathogènes	<b>13</b>
<b>Figure 5</b>	Evolution de l'indice annuelle des cas des TIAC en Algérie	<b>15</b>
<b>Figure 6</b>	<i>Chamaemelum nobile L</i>	<b>19</b>
<b>Figure 7</b>	Photo de récolte <i>Chamaemelum nobile L</i>	<b>20</b>
<b>Figure 8</b>	Photo de l'échantillon broyé	<b>21</b>
<b>Figure 9</b>	Photo de macération sous agitation magnétique	<b>22</b>
<b>Figure 10</b>	Photo de filtration à l'aide d'un papier wattman	<b>22</b>
<b>Figure 11</b>	Photo de l'évaporation de l'extrait méthanolique	<b>23</b>
<b>Figure 12</b>	Protocole de préparation de l'extrait méthanolique de la partie aérienne camomille	<b>23</b>
<b>Figure 13</b>	Concentrations des extraits de <i>Chamaemelum nobile</i>	<b>25</b>

**Liste des figures**

<b>Figure 14</b>	<b>Méthode de contact direct</b>	<b>26</b>
<b>Figure 15</b>	Méthode des disques par diffusion sur gélose MH	<b>29</b>
<b>Figure 16</b>	Méthode de contact direct des extraits de <i><b>Chamaemelum nobile L</b></i> vis-à-vis <i><b>E. coli</b></i>	<b>31</b>
<b>Figure 17</b>	Méthode de contact indirect des extraits de la <i><b>Chamaemelum nobile L</b></i> vis-à-vis <i><b>Escherichia coli</b></i>	<b>33</b>
<b>Figure 18</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de <i><b>Chamaemelum nobile L</b></i>	<b>34</b>

**Liste des tableaux**

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Position taxonomique de <i>Chamaemelum nobile</i> L	<b>4</b>
<b>Tableau 2</b>	principaux constituants chimiques de la camomille ( <i>Chamaemelum nobile</i> L)	<b>6</b>
<b>Tableau 3</b>	Estimation de la sensibilité des souches aux extraits	<b>28</b>
<b>Tableau 4</b>	Effet des concentrations d'extrait méthanolique de <i>Chamaemelum nobile</i> L sur les taux de croissance de certains germes pathogènes	<b>32</b>
<b>Tableau 5</b>	Résultats de l'antibiogramme de la bactérie étudiée ( <i>Escherichia coli</i> )	<b>32</b>
<b>Tableau 6</b>	Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de <i>Chamaemelum nobile</i> L à différentes concentrations	<b>34</b>
<b>Tableau 7</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de <i>Chamaemelum nobile</i> sur ( <i>Staphylococcus aureus</i> )	<b>35</b>
<b>Tableau 8</b>	Rendement d'extraction méthanolique de <i>Chamaemelum nobile</i> L	<b>35</b>

**Liste des abréviations**

<b>Abréviation</b>	<b>Désignation</b>
C°	<b>Degré Celsius</b>
<i>E. coli</i>	<b><i>Escherichia coli</i></b>
GN	<b>Gentamicine</b>
g	<b>Gramme</b>
McF	<b>Macfarlane</b>
ml	<b>Millilitre</b>
MH	<b>Muller Hinton</b>
Mm	<b>millimètre</b>
T.I.A	<b>Toxi- infection alimentaire</b>
UFC	<b>Unité formant colonie</b>
UV	<b>Ultra violet</b>
V	<b>Volume</b>
ZI	<b>Zone d'inhibition</b>
T.I.A.C	<b>Toxi- infection alimentaire collective</b>



# Introduction

### Introduction

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisé diverses plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies **(Zeghad, 2009)**.

Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes par manque d'accès aux médicaments prescrits mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité à l'égard de nombreuses maladies dont le diabète, les cancers, les maladies, infections...etc. **(Belkhodja, 2016)**.

La région méditerranéenne possède des zones biogéographiques parmi les plus rares au monde et une biodiversité de première importance avec beaucoup de plantes d'intérêt thérapeutique **(Belkhodja, 2016)**.

Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes **(Zeghad, 2009)**.

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier une plante médicinale connue par son intérêt c'est la camomille romaine « *Chamaemelum nobile L* », cette dernière est considérée comme une plante médicinales plus anciennes connues de l'humanité. C'est un membre de la famille des *Astéracées*.


Des études récentes ont montré que les espèces de Camomille ont une forte activité antibactérienne, antifongique, antivirale, antiparasitaire **(Singh et al., 2011)**.

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de cette plante en principaux composés phénoliques bioactifs et à déterminer leur propriété antibactérienne vis-à-vis de germes pathogènes responsables d'intoxications alimentaires.



Ce travail est scindé en quatre parties :

- **Première partie** : une illustration sur la plante utilisée.
- **Deuxième partie** : une synthèse bibliographique sur les toxi-infections alimentaires.
- **Troisième partie** : étude expérimentale qui résume toute les étapes pour l'élaboration ce travail.
- **Quatrième partie** : les résultats obtenus avec leur interprétation et une discussion. En fin termine par une conclusion.

A decorative red scroll graphic with rounded corners and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The text is centered on the scroll.

**❖ Chapitre I**  
**Généralités sur la**  
**camomille**

### 1. Généralités sur la famille des *Astéracées*

Le mot « aster » du grec signifie «l'étoile» en référence à la forme des fleurs (**Gaussen et Leroy, 1982**). La famille des Astéracées ou Composées est la famille la plus large des plantes à fleurs, famille de plantes dicotylédones, elle comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres formant approximativement 10% de la flore du monde (**Pottier, 1981**).

Il ya deux plantes camomille de famille *Asteraceae* : **la petite camomille** (*Matricaria recutita*) et **la grand camomille ou camomille romaine** (*Chamaemelum nobile*) (**Wikipedia, 2021**). Et ce qui nous importe, c'est la grande camomille.

### 2. La grande camomille: *Chamaemelum nobile* L.

#### 2.1. Histoire de camomille

La camomille romaine ou anglaise appartient au genre et à l'espèce *Chamaemelum nobile*. Ceci est considéré comme la vraie camomille. C'est une plante vivace originaire d'Europe occidentale et d'Afrique du Nord.

La plante camomille est également été associée aux divinités du soleil dans de nombreuses religions anciennes. Dans l'Egypte ancienne, la camomille était sacrée pour le dieu solaire Ra et était hautement vénérée par rapport à toutes les autres herbes. Les fleurs de camomille sont représentées dans de nombreux hiéroglyphes égyptiens anciens datant de plus de 2 000 ans. La camomille était appréciée non seulement comme une herbe qui pouvait guérir tous les maux, mais la noblesse égyptienne l'utilisait également dans ses régiments de beauté (**Darcy, 2018**).

#### 2.2. Classification

D'après Quezel et Santa (1963), la systématique de la camomille (*Chamaemelum nobile* L) est la suivante (**Tableau 1**) :

Tableau 1 : Position taxonomique de *Chamaemelum nobile* L

Taxonomie	Description
Règne	<i>Plantae</i>
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	<i>Dicotylédoneae</i>
Sous-classe	<i>Astéridées</i>
Ordre	<i>Asteralae</i>
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Chamaemelum</i>
Espèce	<i>Chamaemelum nobile</i> L.

### 2.3. Description botanique

La camomille romaine est une plante basse, rampante ou rampante, dont les touffes de feuilles et de fleurs mesurent un pied de haut. La racine est vivace, articulée et fibreuse, les tiges, velues et librement ramifiées, sont couvertes de feuilles divisées en segments filiformes dont la finesse donne à la plante entière un aspect plumeux. Les fleurs apparaissent dans les derniers jours de l'été, de fin juillet à septembre, et sont portées solitaires sur de longues tiges dressées, tombantes lorsqu'elles sont en bouton. Avec leur frange extérieure de rayons blancs et leur centre jaune, ils ressemblent remarquablement à la marguerite. Il y a environ dix-huit rayons blancs disposés autour d'un centre conique, connu en botanique sous le nom de réceptacle, sur lequel sont placés les fleurons tubulaires jaunes. Le centre de la marguerite est cependant considérablement plus plat que celui de la camomille (Al-Snafi, 2016).

### 2.4. Répartition géographique

Originnaire de l'est de l'Europe et du Moyen-Orient, la camomille est répandue partout en Europe. Elle pousse aussi en Inde, en Amérique du Nord et en Australie. Elle est particulièrement commune en Hongrie, en Croatie, ainsi que dans le nord et l'est de l'Afrique (Fennane, 1987).

### 2.5. Utilisation traditionnelle

La camomille romaine possède des propriétés anti- inflammatoire, antimicrobien, antiseptique et antispasmodique. Elle est très utile pour les sujets hypersensibles, ayant du mal à s'adapter aux réalités existentielles et qui expriment leurs difficultés émotionnelles par des problèmes de peau (**Mourice, 2013**).

La camomille est reconnue comme un vrai remède de grand-mère. Ses qualités sédatives en feraient un agent calmant très doux. Elle apaiserait aussi les rages de dents et les douleurs articulaires. La camomille romaine serait également efficace pour soulager les indigestions, la constipation ou les diarrhées. En usage externe, elle est prescrite comme adoucissant et antiprurigineux dans le traitement des affections dermatologiques, des irritations oculaires, du mal de gorge... Enfin elle est aujourd'hui très recherchée en cosmétologie, notamment pour la préparation de shampoings éclaircissants (**Vidal, 2010**).

### 2.6. Composition chimique

La camomille romaine contient 0,4 à 1,5% d'huile essentielle contenant 85% d'esters, surtout de l'angélate d'isobuyle, accompagné des esters des acides méthylacrylique. Elle renferme aussi un alcool (l'anthémole), de la pinocarvone, du pinocarvéol. On y trouve aussi 0,6% de lactone sesquiterpéniques ; des flavonoïdes ; des acides caféique et ses esters glucosés ; des coumarines ; des acides gras, de mucilage et des minéraux (**Bellakhdar, 2006**).

### 2.7. Les principes actifs

#### 2.7.1. Définition

Le principe actif c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (**Pelt, 1980**). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou sèches, nous pouvons citer comme des parties utilisées ; les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (**Benghanou, 2012**).

#### 2.7.2. Différents groupes des principes actifs

##### 2.7.2.1. Huiles essentielles

Ce sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil offrant à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs (**Iserin et al., 2001**). Ils jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière et attirer les insectes pollinisateurs (**Dunstan et al., 2013**). Les huiles essentielles sont constituées de deux composants, les chamazulènes et matricine (**Ghedira et al., 2010**).

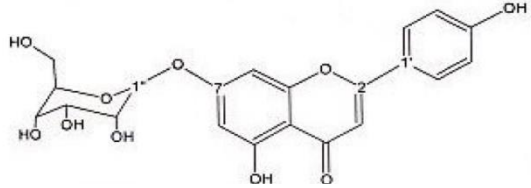
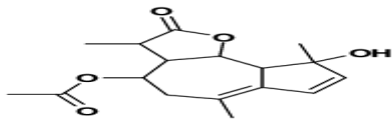
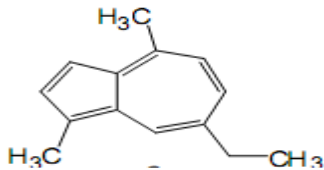
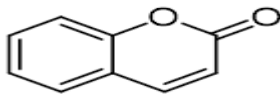
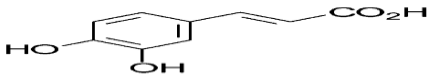
2.7.2.2. Les composées phénoliques (polyphénols)

Les polyphénols sont les constituants le plus abondant dans cette plante, représentés par des coumarines et les flavonoïdes. Coumarines : hernairine et l’esculetine couvrent 0,1 des composants totaux. Les flavonoïdes majeurs sont l’apigénine, le lutéoline et la quercétine représentant 16.8%, 1.9% et 9.9% respectivement de flavonoïdes totaux (Kato et al., 2008).

2.7.2.2.1. Les principales classes de composés phénoliques

La camomille est composée de plusieurs constituants présentés dans le Tableau 2 suivant.

Tableau 2 : Principaux constituants de la camomille (*Chamaemelum nobile* L)

Constituants chimiques	Nom trivial	Structure
Flavonoïde	Apigénine, apigénine-7-O-glucoside et ses Monoacétyl glucoside.	
Sesquiterpène lactone	Matricine	
Huile essentielle	Sesquiterpènes Chamazulène	
Coumarine	Coumarine	
Acide phénolique	Acides caféique	

### 2.7.2.2.1.1. Acides phénoliques

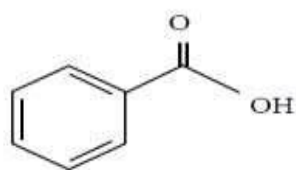
Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Wichtl et Anton, 2009).

### 2.7.2.2.1.2. Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque

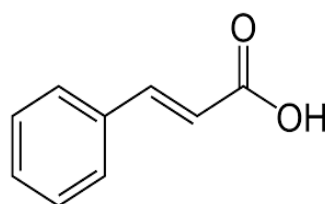
Les acides phénols en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique (Bruneton, 1993).

### 2.7.2.2.1.3. Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique

La plupart des acides phénols en C6-C3 (acides p-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les autres (acides o-coumarique, o-férulique) sont peu fréquents (Bruneton, 1993). Les acides cinnamique et caféique sont des représentants communs du groupe de dérivés phénylpropaniques qui diffère par son degré d'hydroxylation et de méthylation (Cowan, 1999).



Acide benzoïque



Acide cinnamique

Figure 01 : Structure de base des acides benzoïque et cinnamique (Bruneton, 2009)

#### 2.7.2.2.1.4. Flavonoïdes

Terme en latin ; flavus = jaune. Ont une structure de C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> à poids moléculaire faible, ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (**Wichl et Anton, 2009**).

Les flavonoïdes lipophiliques des tissus superficiels des feuilles sont solubles dans les solvants polaires et dans les solvants moyennement polaires (comme par exemple le dichlorométhane) (**Bruneton, 1999**). Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoire, anti-oxydante anti-enzymatique et hépatoprotectrice ; ils jouent un rôle important dans le système de défense et antivirales (**Iserin, 2001**).

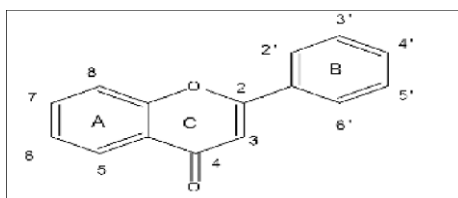


Figure 02 : Structure de base des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

#### 2.7.2.2.1.5. Les coumarines

La coumarine est une substance naturelle organique aromatique. Ces composés possèdent des hydroxyles phénoliques qui peuvent être méthylés ou être engagés dans des liaisons hétérosides. Plus d'un millier de coumarines naturelles ont été décrites. Elles sont très largement distribuées dans le règne végétal (**Mirunalini et krishnaveni, 2011**). Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (**Cowan, 1999**).

#### 2.7.2.2.1.6. Les sesquiterpènes lactones

Les sesquiterpènes lactones, représentent un ensemble important en nombre de substances naturelles. Plus de 3000 structures ont été isolées. L'isolation et l'établissement de leurs structures remontent à plus d'un siècle. En effet, l'asantonine a été isolée pour la première fois en 1930 (**Ahmed et al., 1970**).



### 2.8. Propriétés pharmacologiques

L'activité biologique de la camomille était principalement due aux flavonoïdes apigénine, lutéoline, quercétine, patulétine et aux composants des huiles essentielles tels que le  $\alpha$  bisabolol et ses oxydes et azulènes (Al-Snafi, 2016).

#### 2.8.1. Action sur le système digestif

Divers substances chimiques, présents dans l'huile de camomille possèdent une action relaxante sur les parois du muscle lisse du tube digestif. Une étude a démontré que la camomille détend le tube digestif de manière aussi efficace que la papavérine, un vasodilatateur à base d'opium. La camomille peut également prévenir les ulcères d'estomac et favoriser leur guérison (Hajjaj, 2017).

#### 2.8.2. Problèmes de menstruation

L'action antispasmodique de la camomille s'étend également à d'autres muscles lisses, comme celui de l'utérus. Elle calme les douleurs menstruelles et stimule les règles (Hajjaj, 2017).

#### 2.8.3. Système nerveux

L'organisation mondiale de la Santé (OMS) reconnaît l'usage de la camomille pour soulager l'agitation nerveuse, de même que l'insomnie mineure qui l'accompagne souvent. Bien qu'on s'en serve depuis fort longtemps pour soulager l'agitation et la nervosité, les preuves de son efficacité à cet égard reposent seulement sur des essais menés sur des rats. On attribue habituellement les effets légèrement calmants et sédatifs de la plante à l'apigénine, un de ses ingrédients actifs (Frank, 2005).

#### 2.8.4. Action anti-inflammatoire


Les fleurs de camomille contiennent 1 à 2% d'huiles volatiles, y compris l'alpha-bisabolol, et matricine (habituellement convertis en chamazulène et autres flavonoïdes possédant des propriétés anti-inflammatoires) (Hedjaz et al., 2017).

#### 2.8.5. Activité anticancéreuse

Les extraits aqueux et méthanoliques de la camomille ont provoqué l'apoptose dans les cellules cancéreuses mais pas dans les cellules normales (Ompal et al., 2011).

**2.8.6. Activité antimicrobienne**

Parmi les composants d'huiles essentielles de camomille, l'abisabolol et le chamazulène ont la plus forte activité contre les bactéries Gram positif et Gram négatif, alors que les spiroéthers avaient une faible activité contre les bactéries Gram positif mais étaient inactifs contre les bactéries Gram négatif (**Hedjaz et al., 2017**).

A decorative red scroll graphic with rounded corners and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The text is centered on the scroll.

**❖ Chapitre II**  
**Généralités sur**  
**Toxi-infections**  
**alimentaires**

### 1. Généralités

Une toxi- infection alimentaire **T.I.A** (aussi appelé intoxication alimentaire) est de maladie d'origine alimentaire qui surviennent lors de l'ingestion d'aliments ou de boissons contaminées par des microorganismes pathogène (bactéries, virus, parasites) (**Kahlal et al., 2020**). La contamination de ces aliments peut être le fait de la matière première (animale ou végétale), d'une contamination par l'environnement, par l'homme ou par un autre aliment (contamination croisée) (**Djossou et al., 2010**).

En raison du développement irrépensible de l'industrie et du commerce alimentaires dans le monde (**Buisson, 2008**), qui contamine les denrées alimentaires au cours de la production, la transformation, la conservation et le transport des aliments, par des substances dangereuses pour la santé ou des agents infectieux (**Panisset et al., 2003**).

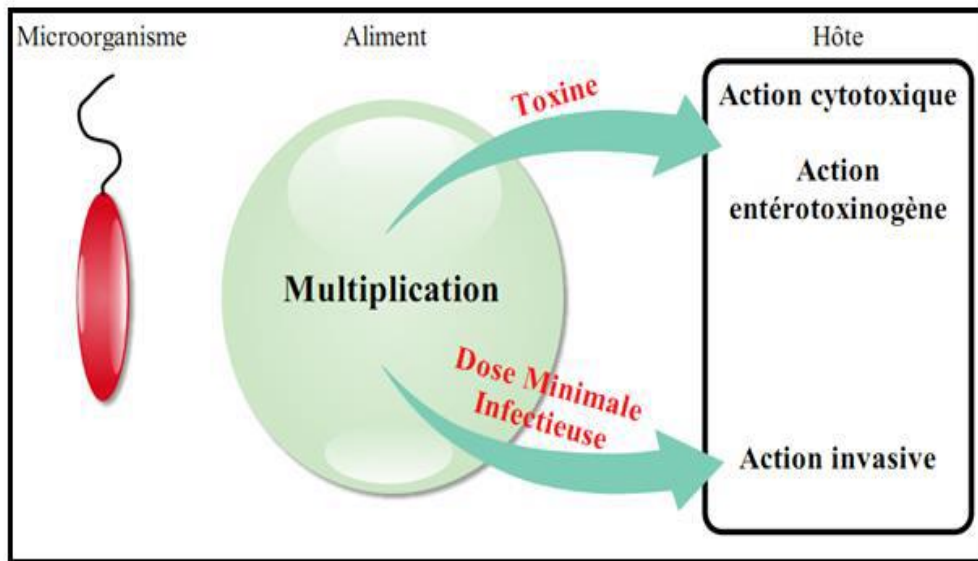
La toxi-infection alimentaire **T.I.A** est devenue un véritable problème de plus en plus préoccupant au niveau mondial, tant par ses fréquences grandissantes que par l'inquiétude qu'elle produit dans l'opinion publique, de ce fait, elle est incluse parmi les maladies transmissibles à déclaration obligatoire et fait l'objet d'une décision du Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière, traduisant la volonté de l'état de disposer de données sur cette maladie afin de mieux suivre son incidence et de minimiser ses dégâts (**Bouza, 2009**).

### 2. Physiopathologie

Il y a trois mécanismes principaux sont responsables de l'activité pathogène des agents responsables des TIA :

- **Action invasive** par colonisation ou ulcération de la muqueuse intestinale avec inflammation. La colonisation est habituellement iléo-colique et destruction villositaire importante. Les selles sont alors glaireuses, riches en polynucléaires, parfois sanglantes.
- **Action cytotoxique** avec production d'une toxine protéique entraînant une destruction cellulaire.
- **Action entérotoxigène** entraînant une stimulation de la sécrétion. La toxine libérée par certaines bactéries au sein même de l'aliment est responsable de tableau clinique : la multiplication bactérienne intra-intestinale étant soit absente soit tout à fait secondaire.

Il n'y a pas de destruction cellulaire ou villositaire. La diarrhée est aqueuse, il n'y a pas de leucocytes, ni de sang dans les selles. La diarrhée cesse en 3 à 5 jours, dès que la population entérocytaire s'est régénérée ou a retrouvé une fonction normale (Malvy et *al.*, 1996). Ces mécanismes sont résumés dans la figure qui suit:

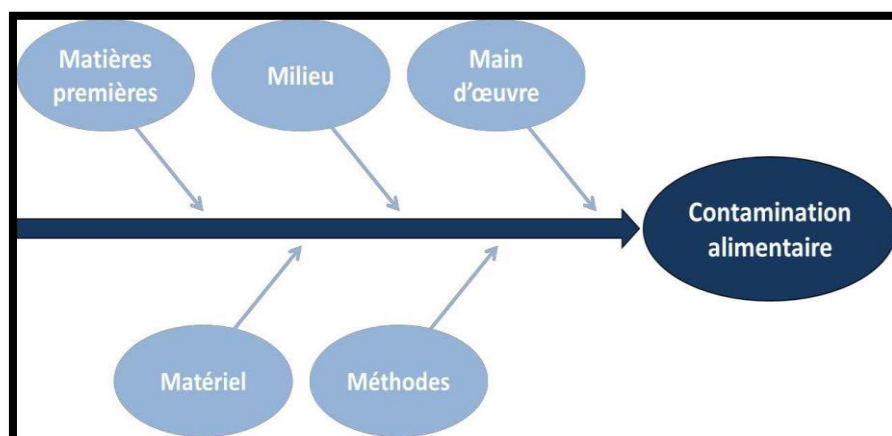


**Figure 03:** Mécanismes des toxi-infections alimentaires (Buisson et Teyssou, 2002).

### 3. Origine des TIA : Concept des 5 M

La contamination des aliments par des microorganismes pathogènes peut se produire tout au long du processus de transformation. Les étapes les plus critiques sont notamment identifiables grâce à des outils couramment employés pour améliorer la gestion de la qualité. Le diagramme des causes et effets d'Ishikawa organisé autour du concept des « 5M » (*i.e.* matières premières, milieu, main d'oeuvre, matériel et méthodes) en est un exemple (Figure 04)

Dans l'industrie alimentaire, des mesures sont ainsi prises à chacune des étapes du processus de transformation, afin de garantir aux consommateurs des denrées sans danger (Guerzou, 2019).



**Figure 04 :** Diagramme des causes et effets d'Ishikawa appliqué à la contamination des aliments par les microorganismes pathogènes.

Si la contamination des denrées alimentaires est causée par un microorganisme pathogène présent dans les matières premières avant le processus de transformation, on parle de contamination endogène. Par opposition, les différentes étapes nécessaires à l'obtention du produit fini constituent un risque de contamination exogène (**Guerzou, 2019**).

### 3.1. Les matières premières

La contamination des matières premières est directement liée à la présence de pathogènes dans l'environnement (e.g. sol, eau) ou au niveau du tractus digestif des animaux dans le cas de produits carnés. Dans le cas des coquillages, c'est la présence de microorganismes dans les eaux des zones conchylicoles qui est par exemple la principale cause de contamination.

La lutte contre les maladies alimentaires débute donc tout d'abord par le contrôle rigoureux des matières premières (e.g. examens vétérinaires des animaux, analyses microbiologiques des produits) mais aussi de leur environnement (e.g. classification des zones conchylicoles, réglementation de l'irrigation des cultures maraîchères). Par la suite, leur stockage dans des conditions appropriées permet de limiter la prolifération des microorganismes éventuellement présents, si ceux-ci sont capables de se multiplier dans les denrées en question. (**Cedric, 2017**).

### 3.2. Le matériel

Le matériel utilisé lors du processus de transformation des denrées alimentaires est également une source potentielle de contamination. Ce paramètre regroupe l'ensemble des machines, outils et autres surfaces qui sont en contact direct avec les produits (**Cedric, 2017**).

### 3.3. Le milieu

La bonne tenue des locaux abritant les étapes de transformation des denrées alimentaires est un paramètre essentiel. De manière générale, les locaux doivent être conçus afin de permettre le maintien d'un niveau d'hygiène suffisant (e.g. revêtements lisses et facilement nettoyables, absence d'angles vifs entre les murs et les sols) et ils doivent être sectorisés (e.g. zone de stockage, chaîne de production, laboratoire, bureaux) (Cedric, 2017).

### 3.4. Les méthodes

Différents paramètres doivent également être pris en compte durant le processus de transformation des aliments afin d'en limiter la contamination. Le recours à des opérations automatisées peut par exemple être préférable à la manipulation des denrées par les employés. Par ailleurs, le respect de la chaîne du froid tout au long du processus permet de limiter la croissance bactérienne. Il convient également de profiter de certains paramètres directement liés aux aliments ou à leur préparation pour contrôler la prolifération des germes (e.g. eau disponible, pH, teneur en sels et en sucres, conditionnement sous atmosphère protectrice). Enfin, certains traitements comme la cuisson, la pasteurisation, la stérilisation, la pascalisation ou encore l'ionisation permettent d'éliminer les pathogènes potentiellement présents (Cedric, 2017).

### 3.5. La main d'oeuvre

La dernière source de contamination des denrées alimentaires identifiée est la main d'oeuvre. Il s'agit sans doute du paramètre le plus important puisque c'est le personnel qui conditionne les autres « M », en contrôlant par exemple les matières premières, en assurant le nettoyage du matériel et des locaux, ou en réalisant la méthode (Cedric, 2017).

## 4. Épidémiologie

L'épidémiologie est une science abordée à l'étude de la distribution, de la fréquence des états de santé et des déterminants de ces variations dans une population humaine. Les études épidémiologiques ont pour objectif de surveiller l'évolution des maladies, d'identifier les facteurs de risque et ainsi mettre en place des mesures de prévention et de lutte pour réduire l'incidence et la prévalence de ces maladies, donc de faire le diagnostic de l'état de santé de la population (Khelalef et Khellaf, 2018).

#### 4.1. Au niveau mondial

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2018), les infections gastro-intestinales dues aux bactéries, virus et parasites présents dans les aliments, font plus de 420.0000 morts par an dans le monde (Guerzou, 2019).

#### 4.2. En Algérie

Selon (Ziane, 2003) avant l'an 2000, l'enregistrement des T.I.A.C en Algérie ne paraissaient pas comme une priorité, la fragilité du système de surveillance et de gestion des risques alimentaires était liée à l'instabilité politique qu'a connue l'Algérie durant les années 90.

A partir de 2000, l'évolution de l'incidence annuelle des TIAC en Algérie.

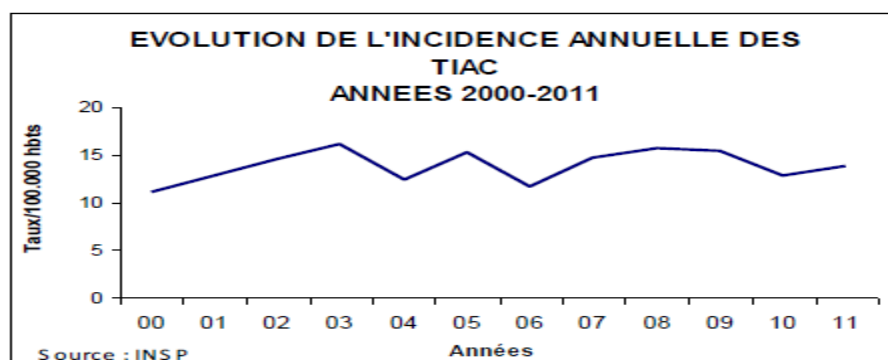


Figure 05 : Evolution de l'indice annuelle des cas des TIAC en Algérie (INSP, 2011).

### 5. Les principaux germes responsables des toxi-infections alimentaires

D'après Dervin, (2013), Les principaux germes responsables des toxi-infections alimentaires est la suivante :

#### 5.1. *Salmonella enterica* serotype *non typhi*

La toxi-infection liée à la consommation d'eau ou d'aliments contaminés. Les aliments associés au risque le plus élevé sont la viande, la volaille, les produits laitiers et les produits aux œufs.

##### 5.1.1. Période d'incubation

La durée d'incubation varie de 5 à 72 heures selon la quantité d'inoculum.



### 5.1.2. Durée des symptômes

Bien que les signes cliniques disparaissent généralement dans les 3 à 7 jours, *Salmonella* spp peut aussi entraîner des infections invasives mortelles.

### 5.2. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* fait partie de la flore humaine. Il est surtout présent dans le nez et sur la peau. De nombreuses souches produisent des entérotoxines staphylococciques.

#### 5.2.1. Période d'incubation

Les symptômes apparaissent habituellement 30 minutes à 8 heures après la consommation des aliments contaminés.

#### 5.2.2. Durée des symptômes

Les symptômes disparaissent habituellement après 24 heures.

### 5.3. *Shigella* spp

Intoxication liée à l'ingestion d'aliments contaminés (lavés avec de l'eau contaminée par des excréments ou manipulés dans de mauvaises conditions d'hygiène; les aliments le plus souvent contaminés sont la salade verte, le poulet et les mollusques et crustacés).

#### 5.3.1. Période d'incubation

La durée d'incubation varie de 1 à 7 jours. Une diarrhée aiguë voire une shigellose (dysenterie bacillaire) peut se manifester dans un délai de 12 à 50 heures.

### 5.4. *Salmonella enterica* serotype *typhi* et *paratyphi*

Cette toxi-infection est liée à la consommation d'eau ou d'aliments contaminés.

### 5.4.1. Période d'incubation

La durée d'incubation varie de 3 à 60 jours, bien que la plupart des infections se manifestent de 7 à 14 jours après la contamination. La période d'incubation de la fièvre typhoïde varie considérablement selon la quantité d'inoculum, la sensibilité de l'hôte et la souche bactérienne.

### 5.4.2. Durée des symptômes

Le cas se manifeste par une fièvre qui prend de l'ampleur dans les 72 heures suivant l'apparition des symptômes.

Si la fièvre entérique n'est pas traitée, elle peut durer plusieurs semaines ; cependant, lorsqu'un traitement antimicrobien approprié est administré, les patients se rétablissent habituellement en l'espace de 10 à 14 jours.

## 5.5. *Campylobacter jejuni* et *E.coli*

Les cas d'infection sont en majeure partie associés à la manipulation et à la consommation de viande crue; l'agent pathogène est très souvent présent sur les carcasses de poulet, et une contamination croisée peut facilement survenir pendant la préparation des aliments.

### 5.5.1. Période d'incubation

La durée d'incubation est approximativement de 1 à 10 jours.

### 5.5.2. Durée des symptômes

Le cas se manifeste par une diarrhée (parfois sanglante) d'une durée de 2 à 10 jours.

## 5.6. *Clostridium perfringens*

La contamination de la viande crue a lieu le plus souvent à l'abattoir (boeuf, poulet, porc...).

Toxi- infection est liée à l'ingestion d'aliments contenant de grandes quantités de *C. perfringens* sous forme végétative. Les aliments en cause sont souvent des plats de viande, de légumes, de poisson ou de volaille qui ont été laissés à température ambiante pendant une période prolongée


après la cuisson. Les spores sont thermorésistantes et se multiplient ensuite dans la lumière intestinale.

### **5.6.1. Période d'incubation**

La durée d'incubation est de 8 à 24 heures.

A red scroll graphic with a gradient from light to dark red. The scroll is unrolled in the middle, with the top and bottom edges curled up. The text is centered on the unrolled portion.

**❖ Partie  
expérimentale**

A decorative red scroll graphic with rounded corners and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The text is centered on the scroll.

❖ **Chapitre III**  
**Matériel et**  
**méthodes**

### 1. Objectif

Le principal objectif de cette étude consiste à évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait méthanoïque de la camomille sur la bactérie *E coli* responsable de toxi-infections alimentaires.

#### ➤ Lieu de déroulement de l'étude

Ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie à l'université de Mostaganem, durant la période mars- mai de l'année 2021, dont l'objectif est la

### 2. Matériel végétal

Dans cette étude, l'espèce utilisée est nommée *Chamaemelum nobile* L (Figure 6). Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne (fleurs).



Figure 6: *Chamaemelum nobile* L (Nelly, 2013).

### 3. Matériel de laboratoire

#### 3.1. Réactifs consommables et milieux de culture

- Gélose nutritive, gélose Muller Hinton, et gélose Baird Parker ;
- Papier filtre ;
- Eau distillée stérile, eau physiologie stérile ;
- Méthanol ;
- Bouillon nutritif ;
- Bouillon Muller Hinton.

#### 3. 2. Matériel et appareils

- Ecouvillons stériles, micropipette et anse de platine ;
- Boîtes Pétri, pipettes Pasteur et pipettes graduées ;

- Bicher, spatule, entonnoir et tubes à essai ;
- Balance, Agitateur - homogénéisateurs et rota vapeur ;
- Bain Marie, réfrigérateur, vortex et autoclave ;
- Etuve et microscope ;
- Plaque chauffante.

#### 4. Prélèvement des échantillons

Les fleurs de *Chamaemelum nobile* L ont été récoltées dans région de Mostaganem, mars 2021. Elles ont été encore séchées à une température ambiante pendant 15 jours et dans l'étuve à une température 40C<sup>0</sup> C pendant 6 jours (**Figure 7**).



**Figure 7 : *Chamaemelum nobile* L (Original).**

#### 5. Préparation de l'extrait

##### 5.1. Broyage

Les échantillons ont été broyés à l'aide de Moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre sèche fine (**figure 8**). Cette poudre est ensuite conditionnée dans des bocaux et stockée dans un endroit sec à l'abri de la lumière pour éviter toute détérioration.



**Figure 8:** Photo de l'échantillon broyé (**Original**).

### 5.2. Extraction des composés phénoliques

L'extraction de principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêts grâce à leur pouvoir antioxydant, est une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans l'identification des composés phénoliques. En conséquence, beaucoup d'auteurs ont étudié l'influence de différentes conditions d'extraction sur les rendements d'extraction de composés phénoliques de source végétale. La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, phénylpropanoïdes, anthocyanines, et tanins. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols. Entre autre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante (**Mahmoudi et al., 2013**)

### 5.3. Préparation de l'extrait méthanolique

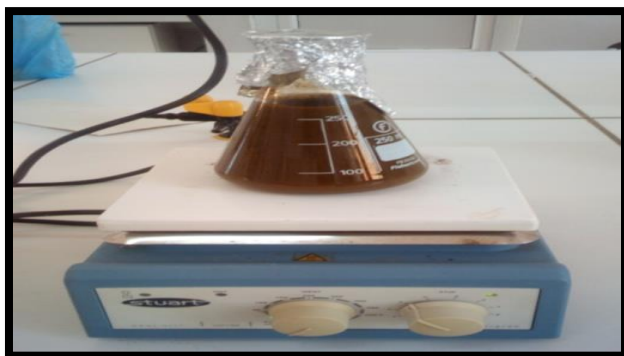
L'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Chamaemelum nobile L* est préparé selon la méthode de **Motamed et Naghibi, (2010)**. Une quantité de 30 g de la partie aérienne composée de fleurs est mise à macérer dans 300 ml méthanol/eau (8 : 2, V/V) sous agitation pendant 24 heures, à l'ombre et à température ambiante. L'extrait récupéré par filtration est soumis à une évaporation du méthanol sous pression réduite à 45°C dans un rota vapeur.

- L'extraction méthanolique des composés phénoliques de la camomille s'effectue selon les étapes suivantes et selon le protocole suivant (**figure 12**).



### 5.3.1. Macération

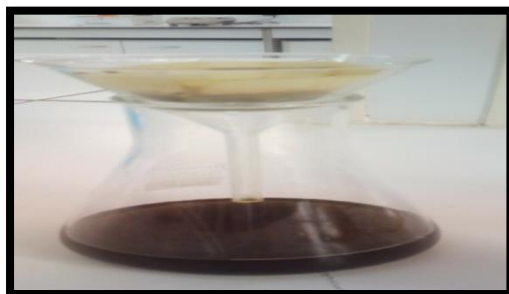
L'extrait a été préparé par 30 g de poudre de camomille avec 300 ml de méthanol de 80% dans un bicher de 1L sur un agitateur magnétique multiposte pendant 48 heures à température ambiante en obscurité pour éviter la photosynthèse (**figure 9**).



**Figure 9** : Macération sous agitation magnétique (**Original**).

### 5.3.2. Filtration

Après la macération, l'extrait de camomille a été filtré à l'aide d'un papier wattman (**figure 10**).



**Figure 10** : Filtration à l'aide d'un papier wattman (**Original**).

### 5.3.3. Evaporation

La solution obtenue a été évaporée à l'aide d'un rota vapeur à 45° C jusqu'à l'évaporation totale du solvant (**figure 11**). L'extrait obtenu a été récupéré dans un flacon en verre puis conservé à 4° C jusqu'à utilisation.



Figure 11 : Evaporation de l'extrait méthanolique (Original)

#### 5.3.4. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction méthanolique est le rapport entre le poids sec de l'extrait et le poids de la plante à traiter (plante en poudre). Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante (Mahmoudi et al., 2013; Cheurfa et al., 2013).

$$R(\%) = Ps/Pp \times 100$$

R(%) : rendement d'extraction en pourcentage

Ps : poids de l'extrait en gramme

Pp : poids de la poudre de plante en gramme.

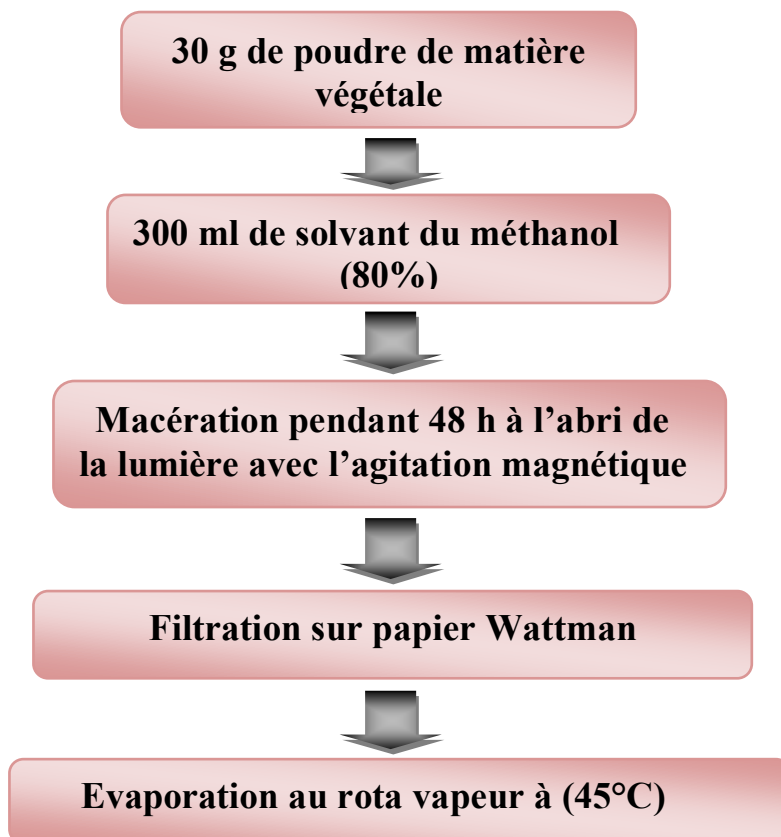


Figure12 : Protocole de préparation de l'extrait méthanolique de la partie aérienne camomille.

### 6. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Chamaemelum nobile* L

#### 6.1. La souche microbienne testée

La bactérie qui a été testée pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits *Chamaemelum nobile* L est *Escherichia coli* de gram négatif obtenue au laboratoire universitaire Abd el hamid ibn badis (ITA. Mostaganem).

Une pré-culture de souche microbienne est réalisée afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance. La turbidité est ensuite ajustée au standard 0,5 Mc Farland avec un spectrophotomètre ce qui correspond à  $1-2 \times 10^8$  UFC/ ml, à une longueur d'onde  $\lambda = 625\text{nm}$  (DO= 0,08 à 0,1).

#### 6.2. Conservation des souches

La souche est conservée à 4°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive).

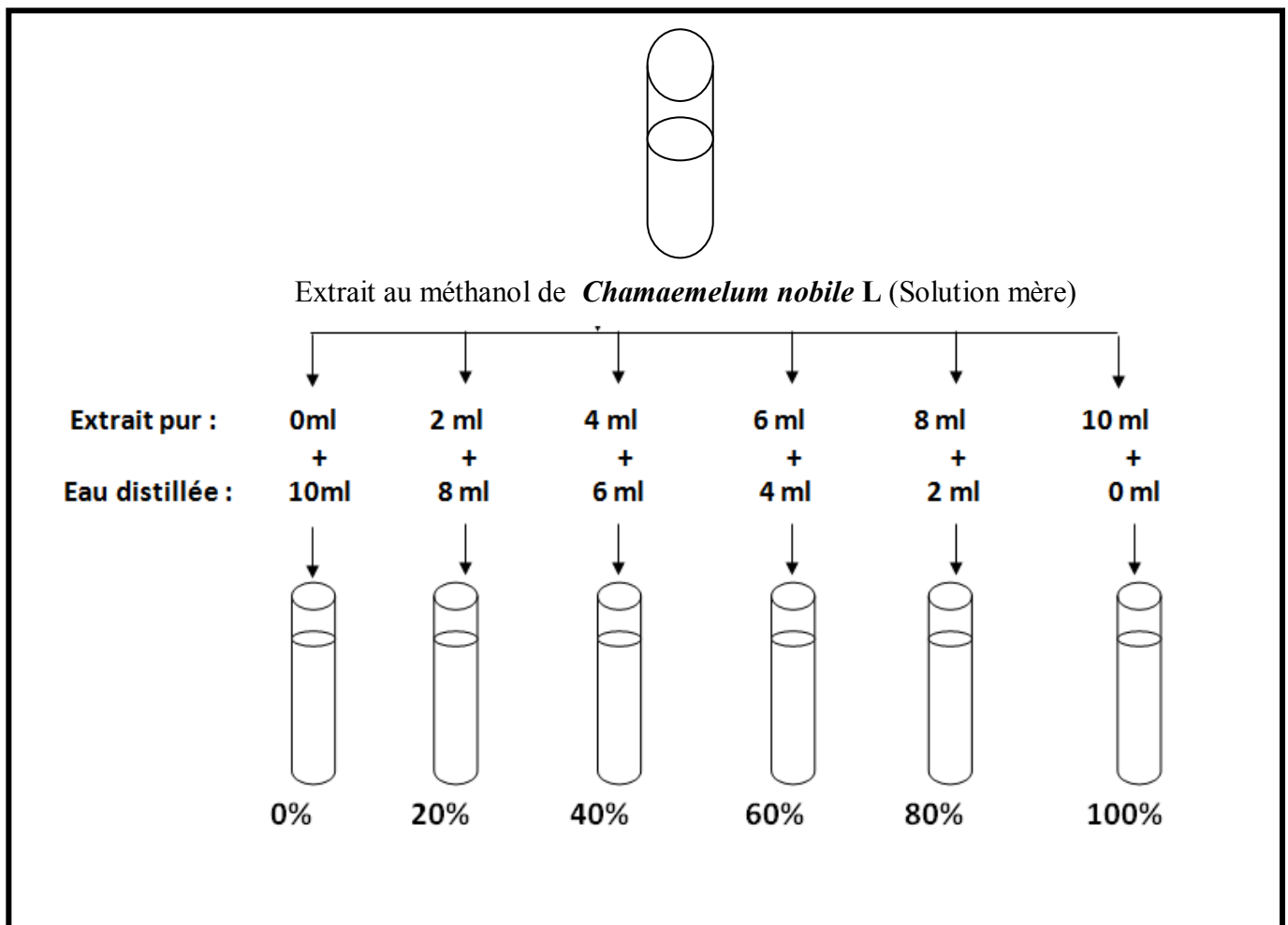
#### 6.3. Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

- La gélose nutritive pour l'isolement d'*Escherichia coli* et l'étude de sa sensibilité aux extraits ;
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de la plante ;
- Bouillon de Mueller Hinton ;
- Bouillon nutritif.

#### 6.4. Préparation des extraits

Les extraits purs riches en composés bioactifs récupérés, sont dilués dans l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement, (**Figure 13**).



**Figure13** : Concentrations des extraits de *Chamaemelum nobile* L

### 7. Méthode de contact direct

Une colonie issue d'une culture jeune d'*Escherichia coli* « souche de référence » activée comme préalablement sur milieu solide gélosé spécifique de gélose nutritive ont été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, ensuiteensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures. A partir de cette dernière solution qui constitue l'inoculum bactérien, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique allant à  $10^{-3}$  ont été effectuées. Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale ont été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque extrait des plantes testés dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100% (**Figure 13**).

Les mélanges des solutions ont été enfinensemencés en triple essais (03 boîtes de Pétri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu gélose nutritive. La lecture du nombre de colonies

développé à été effectuée après incubation des boîtes de pétri à 37°C pendant 24, 48 et 72 heures (Bourgeois et Leveau, 1980) (Figure 14).

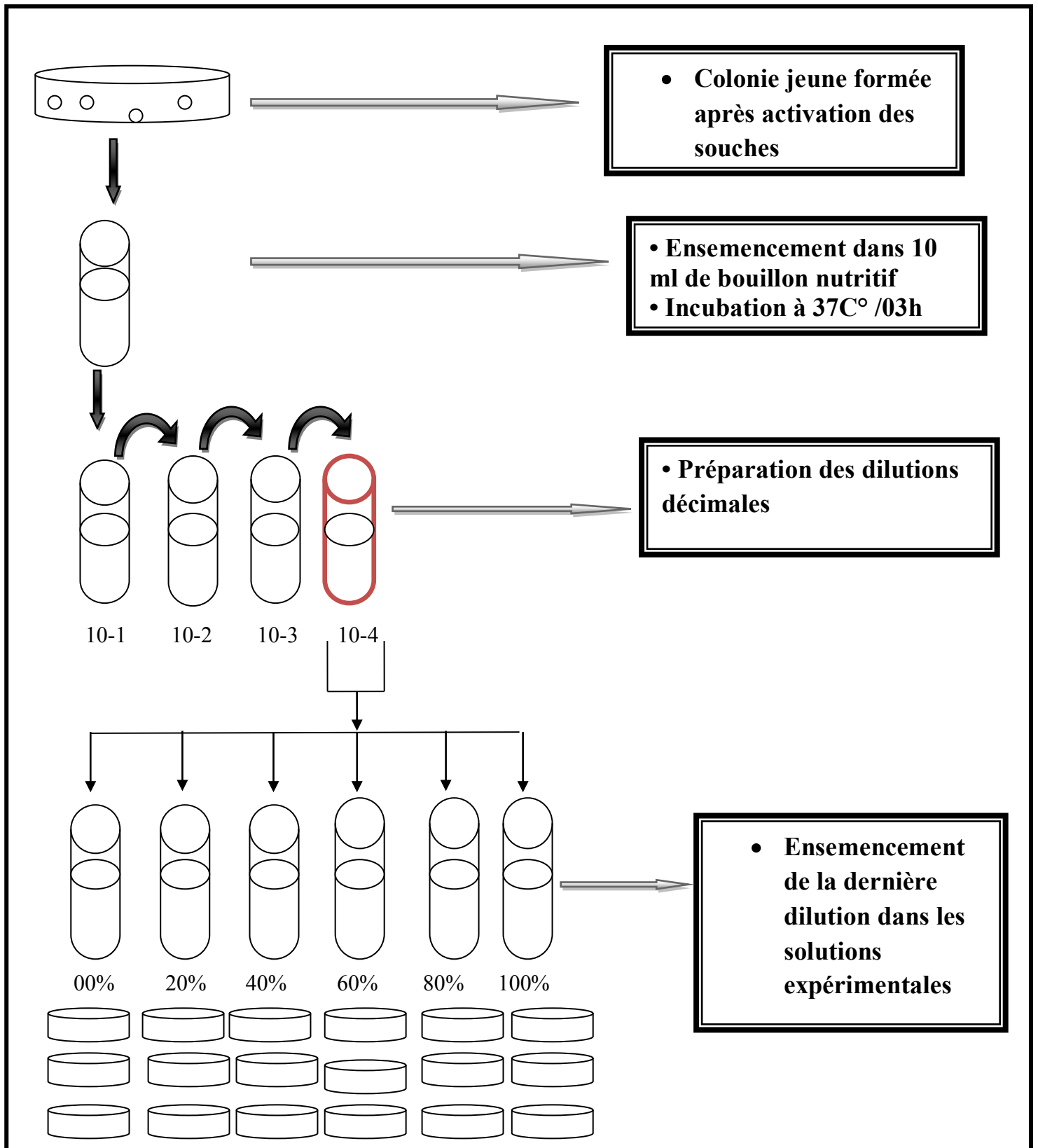


Figure 14 : Méthode de contact direct

## 8. Méthode des disques par diffusion sur gélose (Méthode indirect)

### ➤ Préparation de la suspension bactérienne

Pour chaque souche pure est mise en suspension dans de l'eau physiologique de manière à obtenir une opacité de 0,5 Mc Farland (Forbes et *al.*, 1998).

### 8.1. Antibiogramme

Les boîtes de Pétri coulées avec de la gélose MH est bien séchées (absence d'eau à la surface) sont utilisées pour réaliser l'antibiogramme.

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne et essoré, pour enlever l'excès d'inoculum, par pression sur les bords du tube. Chaque boîte de Pétri est écouvillonnée régulièrement, on la tournant de 90°, jusqu'à l'ensemencement de la totalité de la surface (Ait mohand et *al.*, 2017).

### ➤ Application des disques

Les disques de papier filtre (6 mm de diamètre), ont été individuellement imprégné avec 3 µl de l'extrait et ensuite placés sur la surface du milieu gélosé déjà inoculés avec les microorganismes testés. Toutes les boîtes sont incubées 24h à 37°C (Chaouche, 2014).

L'antibiotique (**Gentamicine**) diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits.

### ➤ Lecture

La lecture (**tableau 3**) se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait végétal (Ponce et *al.*, 2003).

**Tableau 3** : Estimation de la sensibilité des souches aux extrait (Ponce et al., 2003)

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Sensibilité des souches
$D \leq 6$	Résistantes
$D \leq 8$	Légèrement inhibitrice
$9 \leq d \leq 14$	Modérément inhibitrice
$15 \leq d \leq 19$	Fortement inhibitrice
$D \geq 20$	Très fortement inhibitrice

## 8.2. Méthode de l'aromatogramme

Pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques nous avons utilisé la méthode d'aromatogramme c'est une méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé.

Le principe d'aromatogramme est inspiré de l'antibiogramme il permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance bactérienne par mesure de diamètre d'inhibition autour d'un disque imprégné de celle-ci (Kahlal, 2020).

### ➤ Application des disques

Des disques de papier filtre (6 mm de diamètre), sont stérilisés par autoclavage 120 °C pendant 15 minute pendant dans un autoclave. À l'aide d'une pince stérile trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque concentration d'extrait obtenu selon le solvant utilisé sont déposés sur la surface des boîtes de pétriensemencées par les souches à tester. Les boîtes sont ensuite fermées Et laissées diffuser à la température ambiante pendant 30 minutes et mise à l'étuve à une température de 37 °C pendant 24 heures.

### ➤ La lecture

La lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres. La sensibilité aux différentes extraits est organisée selon le diamètre des zones d'inhibition (**figure 15**).

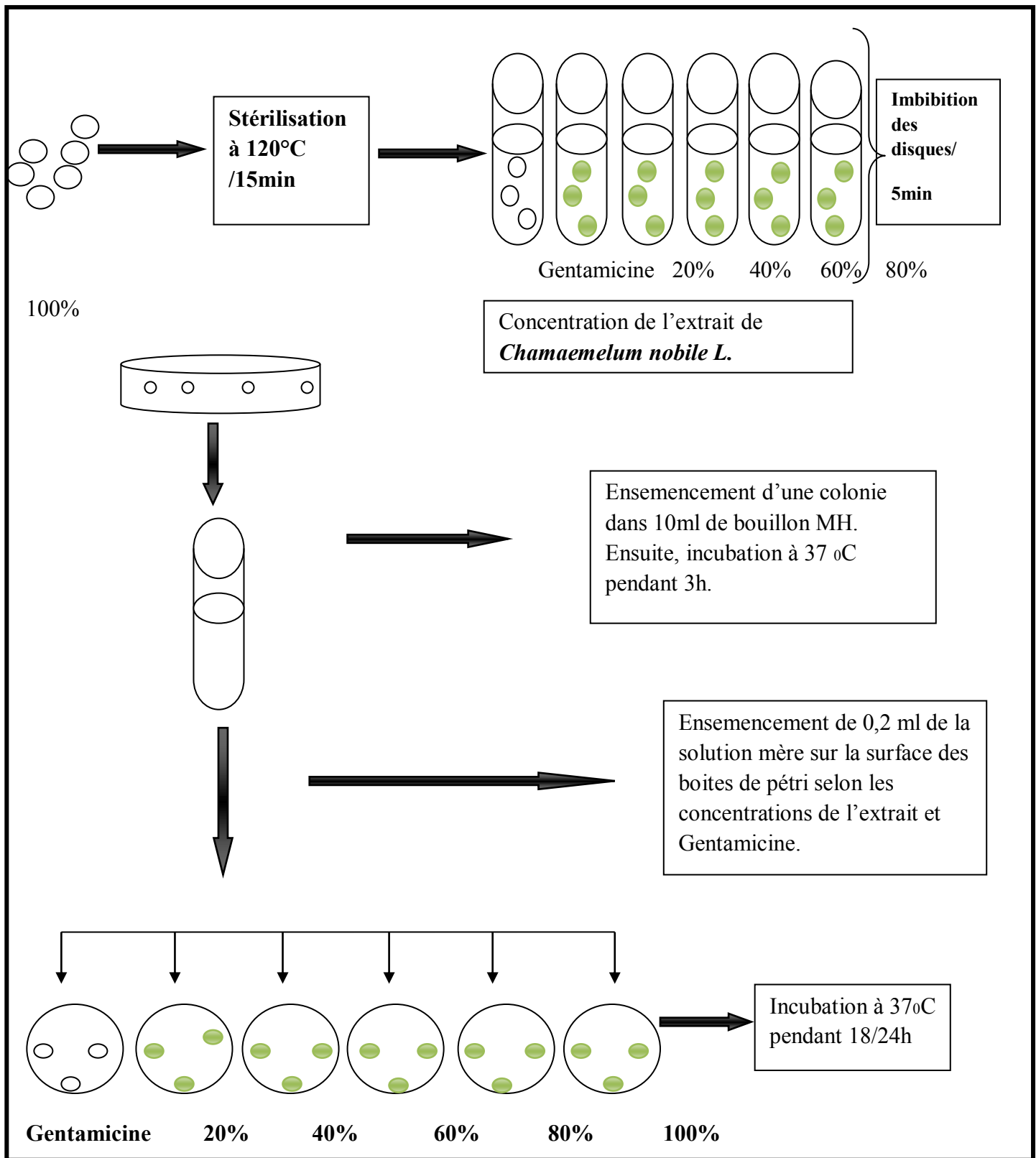


Figure 15 : Méthode des disques par diffusion sur gélose MH (Prescott et al., 2003).




**➤ Lecture des résultats**

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries autour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié.

**9. Traitement statistique**







Les résultats ont été traités statistiquement par une analyse de la variance, suivie d'une comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls. Le logiciel utilisé pour le traitement des données est le stat Box 6.4. L'effet du traitement a été démontré dans l'étude entreprise aux deux seuils de probabilité :  $p < 0,05$  et  $p < 0,01$ . Les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types correspondants.

A decorative red scroll graphic with rounded corners and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The text is centered on the scroll.

**❖ Chapitre IV**  
**Résultats et**  
**discussion**

**1. Résultats de méthode de contact direct**

L'effet des extraits méthanoliques à de *camomille nobile* L sur la croissance du germe pathogène est représenté dans (la Figure 16 et tableau 4).

Concentrations en extrait de camomille	<i>Escherichia coli</i>
00%	
20%	
40%	
60%	
80%	
100%	

**Figure 16 :** Méthode de contact direct des extraits de *Chamaemelum nobile* L sur *E. coli*

**Tableau 4 :** Effet des concentrations d'extrait méthanolique de *Chamaemelum nobile* L sur la croissance d' *Escherichia coli*

Germes	Concentrations en extrait phénolique de <i>Chamaemelum nobile</i> L (%)						Effet des concentrations d'extrait de camomille
	0%	20%	40%	60%	80%	100%	
<i>Escherichia coli</i> (Gram négatif)  (UFC/ml)	286 <sup>a</sup> ×10 <sup>3</sup>	274 <sup>a.b</sup> ×10 <sup>3</sup>	258 <sup>a</sup> ×10 <sup>3</sup>	192 <sup>c</sup> ×10 <sup>3</sup>	161 <sup>d</sup> ×10 <sup>3</sup>	139 <sup>e</sup> ×10 <sup>3</sup>	(P<0,01)  **

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n = 3 ; P<0,01 : effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentrations en extrait hydro-méthanolique de *Chamaemelum nobile* L) ; P<0,05 : effet significatif du facteur étudié ; p>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c...etc. : groupes homogènes de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

Apparemment, plus la concentration en extrait hydro-méthanolique de la plante est élevée plus la croissance du germe testé est abaissée d'une manière hautement significative (P<0,01) \*\*.

## 2. Résultats de l'antibiogramme

L'interprétation de ces résultats est faite selon les Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour (*Escherichia coli*). Les résultats sont résumés dans le (Tableau 5) :

**Tableau 5 :** Résultats de l'antibiogramme de la bactérie étudiées (*Escherichia coli*).

Bactéries	Antibiotiques	Diamètre de la zone (mm)	Effet
<i>Escherichia coli</i> (Gram négatif)	GN(Gentamicine)	30	(S) Sensible

D'après les résultats du tableau 5 on déduit que *E. coli* est sensible à la gentamicine.

## 3. Résultats des aromatoigrammes

2.1. Les résultats démontrant les différents diamètres d'inhibition sont résumés dans (la Figure 17 et tableau 6).



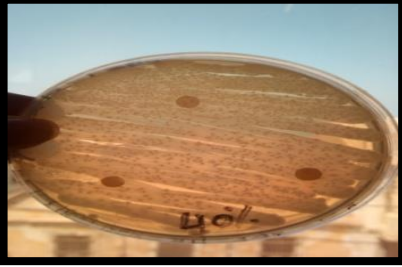
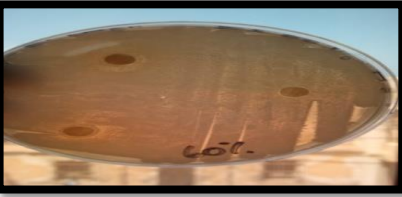


Concentrations en extrait de camomille	<i>Escherichia coli</i> (Gram négatif)
Gentamicine	
20%	
40%	
60%	
80%	
100%	

Figure 17 : Méthode de contact indirect des extraits de la *Chamaemelum nobile* L sur *Escherichia coli*

**Tableau 6 :** Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Chamaemelum nobile* L à différentes concentration (ZI).

Germes	Concentrations en extrait phénolique de <i>Chamaemelum nobile</i> L (%)						Effet des concentrations d'extrait de camomille
	Gentamicine	20%	40%	60%	80%	100%	
<i>Escherichia coli</i> (mm)	29,667	5,667	6,667	7,667	8,667	14,667	(P<0,01)  **
	±	±	±	±	±	±	
	29,667	14,67	8,667	7,667	6,667	5,667	

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n = 3 ; P<0,01 : effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentrations en extrait hydro-méthanolique de *Chamaemelum nobile* L) ; P<0,05 : effet significatif du facteur étudié ; p>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c...etc. : groupes homogènes de comparaison des valeurs moyennes deux a deux selon le test de Newman et Keuls.

En général, plus la concentration en extrait phénolique de romarin est augmentée de 20 à 100% plus le diamètre d'inhibition des germes est augmenté rehaussé significativement (P<0,01) \*\*.

Toutefois, la gentamicine semble accusée de meilleurs résultats d'inhibitions vis-à-vis de ces germes (P<0,01) \*\*.

**4. Détermination du rendement de l'extraction**

Dans cette étude, le rendement (l'extrait sec, obtenu après évaporation, contenant les flavonoïdes et les composés phénolique) a été déterminé par rapport à 30g de la camomille (broyat). Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation). Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le (tableau 8).

**Tableau 8 :** Rendement d'extraction méthanolique de *Chamaemelum nobile* L

<b>Solvant</b>	<b>Poids initial de la prise d'essai (g)</b>	<b>Poids du résidu sec (g)</b>	<b>Rendement d'extraction(%)</b>
<b>Méthanol</b>	<b>30</b>	<b>7.8</b>	<b>26%</b>

A decorative red scroll graphic with rounded corners and a vertical strip on the left side. The scroll is unrolled, showing a central area with a dark red background. The word "Conclusion" is written in a bold, black, serif font, preceded by a black diamond-shaped symbol with a white cross inside.

# ❖ **Conclusion**



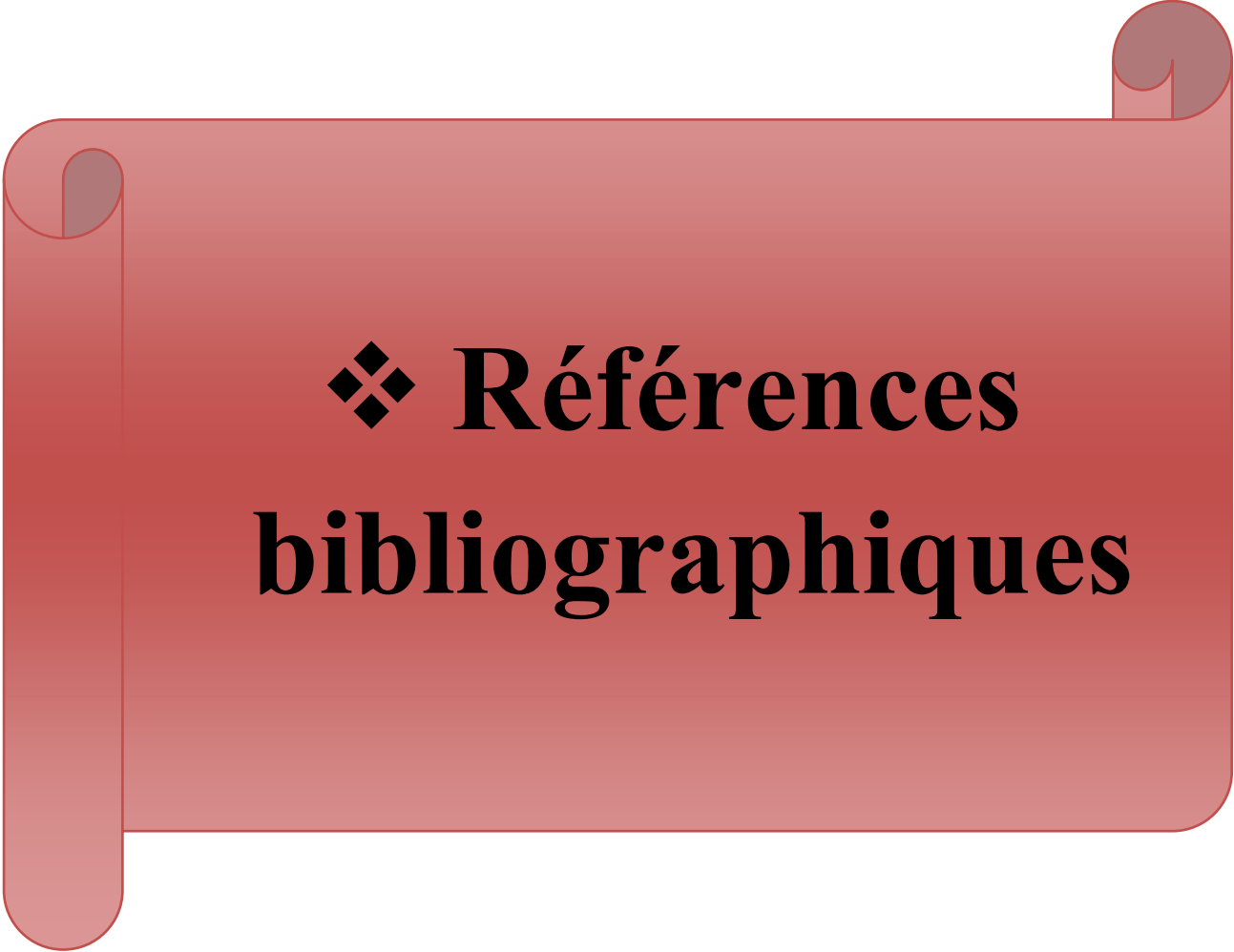
### Conclusion et perspectives

À la lumière de nos résultats les plantes aromatiques et médicinales sont d'une grande importance, surtout avec les vertus thérapeutiques et les activités biologiques que présentent et qui sont connues depuis l'antiquité, ces dernières continuent à faire l'objet de plusieurs recherches scientifiques à travers le monde. Ce présent travail a été consacré à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de plante camomille (*Chamaemelum nobile L*) sur les souches responsables de Toxi-infection alimentaire.

Les résultats obtenus sont d'une grande importance, le rendement d'extrait méthanolique de camomille a donné un rendement important de **26%**.

Dans le présent travail, l'activité antibactérienne de l'extrait brut de la partie aérienne de *Chamaemelum nobile L*. a été déterminée sur deux souches bactériennes, selon la méthode de diffusion de disque, pour leur pouvoir inhibiteur contre un ensemble de bactéries pathogènes : les deux souches étudiées présentent une sensibilité vis-à-vis l'extrait de la camomille, avec un maximum d'inhibition sur *E. coli* (zone d'inhibition de 15mm).

Enfin, on peut conclure que l'étude de l'activité antibactérienne d'extrait méthanolique de *Chamaemelum nobile L* suggèrent que, cette plante représente une source naturelle et prometteuse de molécules chimiques qui possède des activités antibactérienne très importantes.

A decorative red scroll graphic with rounded corners and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The text is centered on the scroll.

**❖ Références  
bibliographiques**

### A

- **Ait mohand C, Khris L., 2017**, Evaluation des risques de toxi-infection en restauration
- **Al-Snafi, A. (2016)**. MEDICAL IMPORTANCE OF ANTHEMIS NOBILIS (CHAMAEMELUM NOBILE) - A REVIEW. *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*, volume (6), p 89.

### B

- **Bellakhdar J., 2006**. Plantes médicinales au Maghreb et soins de base, Précis de Phytothérapie Moderne. Editions Le Fennec. Casablanca, Maroc. 385p .Pp : 32-210.
- **Benghanou M., 2012**. La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Memoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56.
- **Blkhodja H, 2016**, Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara : Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité biologique, thèse de doctorat, université de Mustapha Stambouli Mascara, 174p.
- **Bourgeois C-M., Leveau J-Y., 1980**, Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume 3 : Le contrôle microbiologique. Lavoisier: Tech. Et Doc., pp 331.
- **Bouza, A. (2009)**. Gestion de la Qualité des Aliments (GESQUAL) : Les Toxi-infections Alimentaires Collectives dans l'Est Algérien. Mémoire de stage. Option : Alimentation, Nutrition et Santé, Filière Sciences Alimentaires et Nutrition : Institut De La Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agroalimentaires (INATAA). Constantine, 66 p.
- **Bruneton J**. Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. 4e Ed. Éditions médicales internationales (Tec & Doc), Paris, **2009**, 1288.
- **Bruneton, J. (1993)**. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- **Bruneton, J. 1999**. Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes médicinales ; 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. P : 227-310-312-313-314.494.

- **Buisson, Y. (2008).** Ces maladies infectieuses importées par les aliments. Santé publique, *volume*(101), pp.343-347.
- **Buisson, Y. et Teyssou, R., (2002).** La sécurité Sanitaire des aliments d'origine animale: Les Toxi-infections Alimentaires Collectives. *Revue Française des Laboratoires*, vol 2002, n°348 (décembre 2002). pp. 61-66.

### C

- **Cedric .H, (2017) :** toxi-infections alimentaires collectives : apport de la norme iso 15216 pour évaluer le risque lié à la présence de norovirus humains dans les fruits de mer.these pour le diplome d'étatde docteur en pharmacie -université de lorraine pp. 4-7.
- **Chaouche T., 2014,** Contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. [Mémoire de thèse], Université Abou- Bakr-Bêlait tlemcen.
- **Cheurfa M., Allem R., Sebaihia M., Belhireche S. (2013).** Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytothérapie*, 11(3), 154–160.
- **Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4): 564- 582.
- **Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4): 564- 582.

### D

- **Darcy, Larum, 2018.** Tout sur l'histoire de la camomille. *gardeninge* [en ligne]. 20 septembre 2018. [Consulté le 2 juin 2021]. Disponible à l'adresse : <https://blog.gardeningknowhow.com/tbt/chamomile-plant-history/>

- **Dunstan H., Florentine S. K., Calviño-Cancela M., Westbrooke M.E., Palmer G. C., 2013.** Dietary characteristics of Emus (*Dromaius novaehollandiae*) in semi-arid New South Wales, Australia, and dispersal and germination of ingested seeds. CSIRO PUBLISHING, 113: 168-176.

### F

- **F. Djossou, A. Martrenchar, D. Malvy., (2010)** Infections et toxi-infections d'origine alimentaire et hydrique. Orientation diagnostique et conduite à tenir, [En ligne] <https://www.em-consulte.com/article/264660/infections-et-toxi-infections-d-origine-alimentair> (28, mai, 2021)  
**Fabien Dervin.** Le risque de toxi-infection alimentaire lié aux salariés manipulant des aliments : recommandations pour la surveillance médicale des salariés. Médecine humaine et pathologie. 2013. dumas- 00846387v2  
**Fennane M. 1987.** Grande encyclopédie du Maroc : Flore et végétation. Ed. Grupp. Walk. Over Italie, G.E.M. Rabat, 114-116.
- **Forbes B., Sahm D. and Weissfeld A., 1998.** Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.

### G

- **Ghedira K., Goetz P., Le Jeune R. (2010).** *Syzygium aromaticum (L.) Merr and Perry (Myrtaceae)* Giroflier. *Phytothérapie*, 8(1), 37-43.
- **Guerzou, F. (2019).** *Contribution à une étude épidémiologique descriptive des cas de Toxi-infections Alimentaires Collectives (TIAC) enregistrés au niveau de la Wilaya de Djelfa (2013 – 2018)* [Projet de fin d'étude]. Université Ziane Achour –Djelfa.

### H

- **HAJJAJ, G. (2017).** *SCREENING PHYTOCHIMIQUE, ETUDE TOXICOLOGIQUE ET VALORISATION PHARMACOLOGIQUE DE MATRICARIA CHAMOMILLA L. ET DE L'ORMENIS MIXTA L. (ASTERACEAE)* (Thèse de doctorat) Repéré sur <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/bitstream/handle/123456789/>

## Références bibliographiques

---

- **Hedjaz, Y., Nouar, H., Nouar, Z. (2017).** *Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de la camomille sur les souches bactériennes responsable des infections oculaires* [Mémoire de fin d'étude]. Université Med -Seddik Benyahia –Jijel.

### I

- **INSTITUT NATIONAL DE SANTE PUBLIQUE (INSP). (2001).** Situation + Epidémiologique Mensuel (R.E.M), Vol : 12, n° 5. Algérie. 15 p.
- **Iserin P., 2001.** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse, pp10, 335.
- **Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., DE LAAGE DE MEUX A., Moulard F., ZHA E., DE LA ROQUE R., DE LA ROQUE O., VICAN P., DEELESALLE -FEAT T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J., Botrel A., 2001.** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong.

### K

- **Kahlal I, Mahiout Y, Bounaga Z., 2020,** Effet d'extraits de quelques légumineuses sur quelques bactéries responsables de toxi-infection alimentaires .Mémoire de Fin de Cycle, Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana.
- **Kahlal, I., Mahiout Y., et Bounaga Z. (2020).** *Effet d'extraits de quelques légumineuses sur quelques bactéries responsables de toxi-infection alimentaires* [Mémoire de Fin de Cycle]. Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana.
- **Kato A., Minoshima Y., Yamamoto J., Adachi I., Awatson A. and Nash R.J., 2008.** Protective Effects of Dietary Chamomile Tea on Diabetic Complications. *J. Agric. Food Chemistry*. 56 : 8206-8211.
- **Khelalef, K. et Khellaf, M., (2018).** *Etude du profil épidémiologique des Toxi-Infections Alimentaires Collectives dans la wilaya de Jijel : Etude de cas* [Mémoire de fin d'études]. Université Mohammed-Seddik Benyahia- Jijel.

### M

- **Mahmoudi, S, N.,Khali, M. (2013).**Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). 1-6.
- **Malvy D., Djossou F., Le Bras M, 1996 :** les toxi- infections alimentaires collectives aspects cliniques épidémiologiques.

- **Mirunalini S. and krishnaveni M., 2011.** Coumarin: A Plant derived Polyphenol with wide Biomedical Applications. *International Journal of Pharm Tech Research*. 3(3): 1693-1696.
- **Motamed S M and Naghibi F (2010).** Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahra region in northern Iran. *Food Chemistry*, **119**, 1637-1642.
- **Mourice N., 2013.** *Chamaemelum nobile* (camomille romain). Bulletin d'information, Hunzaroma Inc.

### P

- **Panisset, J.C., Dewailly, E. et Doucet-leduc, H. (2003).** Contamination Alimentaire. In : Environnement et santé publique - Fondements et pratiques, pp. 369-395.
- **Pelt J. M., 1980.** Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris: 221.
- **Ponce, A.G., Fritz, R., Del valle, C., Roura, S.I. (2003).** Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Society of Food Science and Technology* (Elsevier), 36: 679-684.
- **Pottier, G. (1981).** *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes dicotylédones–gamopétales, 1012p.
- **Prescott L-M., Harley J-P., Klein D-A, 2003,** Microbiologie. De Boeck-Supérieur, pp 1137. rapide et de l'effet antibactérien de quelques plantes médicinales. [Mémoire de fin d'études], Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

### Q

**Quezel P. & Santa S., 1963.** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Edition du centre national de la Recherche scientifique. Paris. 788 p.

### S

- **Singh O., Khanam Z., Misra N., Srivastava M. K. (2011).** Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview. *Pharmacognosy reviews*, 5(9), 82.

### V

**Vidal, 2010.** Guide des plantes qui soignent, édition Vidal, 2010.

### W

- **Wichtl M., Anton R., 2009.** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris: 38, 41.
- **Wikipedia, 2020,** [https://fr.wikipedia.org/wiki/Tanacetum\\_parthenium](https://fr.wikipedia.org/wiki/Tanacetum_parthenium).

### Z

- **Z. F. Ahmed, H. Rimpler, F. M. Hammouda, A. M. Rizk, and S. L. Ismail,** Phytochemistry, 9, 1595 (1970).
- **Zeghad Nadia. 2009.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister (Ecole doctorale) Option : Biotechnologie végétale. Université Mentouri Constantine.P1
- **Ziane, M. (2003).** Caractérisation, identification et étude de la thermorésistance de souches de *Bacillus cereus* isolées de semoule de couscous. Thèse Présentée en vue de l'obtention de grade de Docteur en Biologie. Université ABOUBEKR BELKAID TLEMEN. 66p.