



DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BENAHMED Khadidja

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCE ALIMENTAIRE

Spécialité: nutrition et pathologie

THÈME

Effet antibactérien de l'*Annona cherimola* vis-à-vis de certains pathogènes

Soutenue publiquement le 04/07/2019

DEVANT LE JURY

Président	A. CHAALEL	Grade	MCA	U. Mostaganem
Encadreur	N. BOUKEZZOULA	Grade	MAA	U. Mostaganem
Co-Encadreur	D. HAMED	Grade	Ingénieur	U. Mostaganem
Examineurs	K. ZERROUKI	Grade	MAA	U. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire des Microorganismes bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS)

Année universitaire 2018 / 2019.

Remerciement

Je remercie, tout d'abord dieu tout puissant de nous avoir donné la persévérance et l'obstination de parcourir notre chemin scientifique.

Je voudrais témoigner ma reconnaissance à Ms CHAALAL et Mme ZERROUKI et Mme N. BOUKEZZOULA pour sa rigueur scientifique, son exigence, sa disponibilité et ses encouragements durant la réalisation de ce mémoire, au sein du laboratoire de recherche microorganismes bénéfiques des aliments fonctionnels et de la santé -LMBAFS- Université de Mostaganem.

Je tiens à remercier notre directeur de laboratoire de LMBAFS, le Pr RIAZI ALI, de m'avoir donné l'opportunité d'effectuer mon mémoire dans son laboratoire.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire, pour leur aide et leur disponibilité surtout Mme D. HAMED.

Enfin, Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin durant l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail...

A ma très chère mère

Qui représente pour moi la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encouragé et de prier pour moi.

A mon père

Aucune dédicace ne serait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement, et le respect que j'ai toujours eu pour lui Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit des sacrifices qui ont consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chères sœurs et mon frère

Amina, Imane, Ismail

Je leur souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite. J'exprime ainsi mes sentiments de fraternité et d'amour.

A mon fiancé

Mohammed. N

A mes ami (e)s

Bouchera, Djohar, Amina, Hadjar, Karima, Khadidja.

Résumé

L'objectif de ce présent travail est d'étudier le pouvoir antimicrobien de l'extrait à partir des fruits d'*Annona cherimola* provenant de France vis à vis de 06 microorganismes testés : *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

Les résultats sont exprimés par le diamètre des zones d'inhibition par méthode de diffusion en puits AWDT et la détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI). Les résultats du test d'AWDT ont révélé les diamètres suivants par ordre décroissant, avec *Escherichia coli* ATCC 25922 (42.00±00.00 mm), *Candida albicans* ATCC 10231 (34±00.00 mm).

Aucune activité antimicrobienne n'a été noté vis-à-vis des souches *Bacillus cereus* ATCC 10876, et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) la plus élevée était enregistrée avec *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (45±00.00) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (43±00.00).

Ces résultats suggèrent l'éventualité de l'utilisation de l'extrait d'*Annona cherimola* comme traitement vis-à-vis de certaines infections d'origine bactérienne voir même certaines mycoses.

Mots clés : *Annona cherimola* – antagonisme – pathogènes – inhibition – *Candida albicans*.

Abstract

The objective of this work is to study the antimicrobial power of the fruit extract of *Annona cherimola* from France against 06 microorganisms tested: *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

The results are expressed as the diameter of the inhibition zones by AWDT well diffusion test and the minimum inhibitory concentration (MIC) determination. The results of the AWDT test revealed the following diameters in decreasing order, with *Escherichia coli* ATCC 25922 (42.00 ± 00.00 mm) and *Candida albicans* ATCC 10231 (34 ± 00.00 mm).

No antimicrobial activity was noted with *Bacillus cereus* strains ATCC 10876, and *Staphylococcus aureus* ATCC 33862. The highest minimum inhibitory concentration (MIC) was recorded with *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (45 ± 00.00) and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (43 ± 00.00).

These results suggest the possibility of using *Annona cherimola* extract as a treatment against certain bacterial infections or even certain mycosis.

Key words : *Annona cherimola* – antagonism – pathogenic bacteria – *Candida albicans*– inhibition

Liste des abréviations

- LMBAFS** : Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé.
- ATCC**: American Type Culture Collection.
- AWDT**: Agar Well Diffusion Test.
- CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.
- INT** : Inhibition Total.
- ZIs** : Zones d’Inhibition.
- LAB** : Appartient aux Bactéries Lactiques.
- E. coli** :*Escherichia coli*.
- C. albicans** :*Candidat albicans*.
- B. cereus** :*Bacillus cereus*.
- B. subtilis** :*Bacillus subtilis*.
- S. aureus** :*Staphylococcus aureus*.

Liste des tableaux et des figures

Liste des tableaux

Chapitre I : Généralités sur *Annona cherimola*.

Tableau 01 : Classification Cronquist de l'*Annona cherimola*(Michayewi, 2013).....06

Tableau 02 : Composition nutritionnel de l'*Annona cherimola*(Venkatesh k et al.,2011).....12

Chapitre III : Matériels et méthodes.

Tableau 03 : La nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées.....32

Liste des figures

Chapitre I : Généralité sur *Annona cherimola*.

Figure 1 : Le fruit *Annona cherimola*.

Figure 2: *Annona cherimola* : feuilles, fleurs, fruits et graines.

Chapitre II : Généralités sur toxinogénèse.

Figure 3: Les *Bacillus cereus*.

Figure 4: *Bacillus subtilis*.

Figure 5 : *Staphylococcus aureus*.

Figure 06 : *Escherichia coli*.

Figure 07 : *Pseudomonas aeruginosa*.

Figure 08 : morphologie de *Candidat albicans* (Alan et al., 1986).

Chapitre III : Matériels et méthodes.

Figure 9: Les étapes de l'extraction d'*Annona cherimola* (Annok et al., 2012).

Figure 10 : Méthode d'extraction de l'*Annona cherimola* (Annok et al., 2012).

Figure 11: La méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983).

Figure 12 : La méthode de détermination de la Concentration minimale inhibitrice

Chapitre IV : Résultats et discussion.

Figure 13 : Pouvoir antibactérien d'extrait brut (*Annona cherimola*) par la méthode de diffusion en puits vis à vis de *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, et *Candida albicans* ATCC 10231.

Figure 14 : Diamètre des zones d'inhibition (en mm) en présence d'extrait brut (*Annona cherimola*) vis à vis *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, et *Candidat albicans* ATCC 10231.

Figure 15 : Pouvoir antibactérien d'extrait brut (*Annona cherimola*) par la méthode de diffusion en puits vis à vis, *Bacillus cereus* ATCC 10876, et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

Figure16: Pouvoir d'activité antimicrobienne d'extrait d'*Annona cherimola*(diamètre d'inhibition) vis-à-vis des souches pathogènes : *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candidat albicans* ATCC 10231, *Bacillus cereus* ATCC 10876, et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862. Les valeurs représentent la moyenne (mm) de 6 déterminations.

Figure 17: Pouvoir antibactérien d'extrait brut d'*Annona cherimola*(diamètre d'inhibition) vis-à-vis des souches pathogènes : *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 10876, et *Staphylococcus aureus* ATCC 338625 (les bactéries de Gram+).les valeurs représentent la moyenne (mm) de 3 déterminations.

Figure 18: Pouvoir d'activité antimicrobienne d'extrait brut d'*Annona cherimola*(diamètre d'inhibition) vis-à-vis des souches pathogènes : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Escherichia coli* ATCC 25922 (les bactéries de Gram-). Les valeurs représentent la moyenne (mm) de 2 déterminations.

Figure 19: Concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque souche testée.

Table des matières

Table des matières

Remerciement.

Dédicace.

Résumé.

Abstract.

Liste des abréviations.

Listes des tableaux et des figures.

Tables des matières.

Introduction	2
Chapitre I: Généralité sur l'Annona cherimola.	
I.1. Historique	5
I.2. Classification.....	5
I.3. Description botanique	6
I.4. Culture.....	7
I.4.1. Ecologie	7
I.4.1.1. Climat.....	7
I.4.1.2. Sol.....	8
I.4.1.3. Origine et distribution.....	8
I.4.2. Multiplication et plantation.....	9
I.4.3. La récolte.....	10
I.5. Les caractères morphologiques de l'Annona cherimola.....	11
I.5.1. Les feuilles de l'Annona cherimola.....	11
I.5.2. Les fleurs de l'Annona cherimola.....	11
I.5.3. Les fruits de l'Annona cherimola.....	11
I.6. La composition nutritionnelle de l'Annona cherimola	12
I.6.1. Les vitamines	13
I.6.2. Les minéraux	13
I.6.3. Les protéines	13
I.6.4. Les graisses	14
I.6.5. Les glucides	14
I.6.7. Les fibres alimentaires	15
I.7. Usage de l'Annona cherimola	15

I.8. Constituants phytochimiques de l'Annona cherimola.....	15
I.9. propriété médicinale du fruit Annona cherimola.....	16
I.9.1. Améliore la santé cardiovasculaire.....	16
I.9.2. C'est un antimicrobien naturel.....	16
I.9.3. C'est un grand allié pour perdre du poids.....	16
I.9.4. Il a un effet tranquillisant et antidépresseur.....	17
I.9.5. Il protège contre l'ostéoporose.....	17
I.9.6. Il est idéal pour la grossesse.....	17
I.9.7. Il régule la digestion.....	18
I.9.8. Il a un effet antioxydant.....	18
I.9.9. C'est un excellent aliment pour les petits enfants.....	18
I.10. Autre effet.....	18

Chapitre II: Généralité sur la toxogénèse bactérienne

II.1. description des microorganismes étudiés	21
II.2. Physiopathologie	21
II.2.1. Les <i>Bacillus cereus</i> pathogène.....	21
II.2.1.1. Pouvoir pathogène	22
II.2.2. <i>Bacillus subtilis</i>	22
II.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	23
II.2.3.1. Transmission	24
II.2.3.2. Pouvoir pathogène	24
II.2.3.2.1. Lésions suppurées.....	24
II.2.3.2.2. Septicémies et endocardites	25
II.2.3.2.3. Manifestation d'origine toxique.....	25
II.2.4. <i>Escherichia coli</i>	26
II.2.4.1 .Pouvoir pathogène.....	26
II.2.4.1.1. Infection urinaire	26

II.2.4.1.2. Infection intestinale.....	26
II.2.4.1.3. Infection néonatale.....	27
II.2.4.1.4. Infection diverses	27
II.2.5. <i>Pseudomonasaeruginosa</i>	27
II.2.5.1. Pouvoir pathogène	28
II.2.6. <i>Candida albicans</i>	28
II.2.6.1. Morphologie de <i>candida albicans</i>	28
II.2.6.2. Pathogénicité et toxicité	29
Chapitre III. Matériels et méthode	
III.1. Objectifs de l'expérimentation	31
III.2. Matériels végétales.....	31
III.3. Origines des souches testées	31
III.4. Partie expérimentale.....	32
III.4.1 Extraction	32
III.5 Antagonisme.....	35
III.5.1. Les milieux de culture utilisés.....	35
III.5.2. Réactivation des souches indicatrices	35
III.5.3. Méthode de diffusion en puits AWDT	35
III.5.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	37
Chapitre IV. Résultats et discussion	
IV.1. Pouvoir l'activité antimicrobienne de <i>Annona cherimola</i>	40
IV.1.1. Méthode de diffusion en puits AWDT.....	40
IV.1.1.1. Diffusion sur agar semi-solide par la méthode des puits AWDT.....	40
IV.2. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	46

Conclusion générale.

Références bibliographiques.

Partie bibliographique

Introduction

Introduction

La médecine traditionnelle est pratiquée pendant de nombreux siècles par une proportion substantielle de la population.

La plupart des espèces végétales ont une valeur médicinale et ont été caractérisées depuis l'Antiquité, n'entraînant aucun effet toxique sur le corps humain (Mothana et Linclequist, 2005).

Plusieurs études ont montré la forte corrélation entre la consommation de fruits dans la prévention et le traitement de diverses maladies (Park *et al.*, 2011). En plus de leur goût délicieux et de leur saveur, les fruits exotiques sont une source importante de composés bioactifs dans l'alimentation humaine. De plus, la consommation de fruits exotiques s'accroît sur les marchés nationaux et internationaux en raison de la reconnaissance croissante de leur valeur nutritive (Monica *et al.*, 2012).

L'*Annona cherimola* est l'une des plantes les plus anciennes mentionnées en raison de ses propriétés médicinales et de ses bienfaits pour la santé. Les médecins anciens considéraient ce fruit comme une bénédiction pour l'humanité.

Souvent appelée «fruit miracle» ou «guérisseuse de la nature», l'*Annona cherimola* est une plante aux nombreuses surprises. Le nom botanique d'*Annona cherimola* est *Annona cherimola* mill. IL appartient à la famille Annonaceae.

IL y a plus de 400 espèces d'Annonaceae cultivées dans le monde, mais c'est la meunière d'*Annona cherimola* (*Annona cherimola* mill) qui a été la plus utile à l'humanité en raison de ses propriétés médicinales (Mehta, 2017).

L'*Annona cherimola* contient différents contenus nutritionnels tels que les vitamines, les minéraux, sucres, composés de phénol, stérol ainsi que des acides aminés. C'est largement utilisé dans le domaine nutritionnel (Asghari et Ahmadvand, 2018).

Annona cherimola a des propriétés qui a de nombreux usages médicaux. Il a été observé à travers la recherche que la prise d'*Annona cherimola* a été utile dans le contrôle du cholestérol. La plupart des personnes atteintes de cholestérol ont consommé de l'*Annona cherimola*. IL a également été utilisé contre les infections (Sampath, 2010).

Dans ce cadre de notre étude s'est intéressée à l'évaluation de l'effet antimicrobien de l'*Annona cherimola* sur six microorganismes testés dont deux bactéries à Gram négatif, trois à Gram positif ainsi qu'une levure.

Chapitre I :

Généralités sur l'*Annona cherimola*

Chapitre I: Partie bibliographique

I.2. Généralités sur l'*Annona cherimola*

I.1. Historique

Au cours des dernières décennies il y a eu de plus en plus d'intérêt dans l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle en différentes parties du monde. La phytochimie joue un rôle important dans l'identification des médicaments. L'objectif principal des études est d'enquêter sur la présence de diverses substances phytochimiques et contrôler leurs activités.

L'*Annona cherimola* (Annonacée) est l'un des fruits tropicaux qui est devenu une culture importante en raison de ses excellentes propriétés sensorielles et parce que c'est une source de composés bioactifs qui montrent tellement de caractéristiques fonctionnelles telles que leurs activités anti tumorale, antioxydant et antimicrobienne qu'il est intéressant de l'étudier, en totalité ou en partie (Arun Jyothi et Venkateshet *al.*, 2011).

L'Anone (*Annona cherimola*), de la famille des Annonacées, est considéré par beaucoup, d'un point de vue de qualité, comme le meilleur fruit du genre *Annona* et même comme un des meilleurs fruits subtropicaux, d'où son nom « Reine des fruits subtropicaux ». Il est commercialement cultivé pour ses fruits comestibles et pour des utilisations traditionnelles (Xavier Scheldeman, 2002).

Bien qu'il n'y ait encore aucun accord définitif sur l'emplacement exact du centre d'origine de l'*Annona cherimola*, de nombreux chercheurs comprennent le Pérou comme centre d'origine mais d'autres affirment que le fruit était inconnu au Pérou jusqu'à après que les graines ont été envoyées par P. BernabéCobo du Guatemala en 1629 (Arun Jyothi B, Venkatesh K *et al.*, 2011).

Les conditions édapho-climatiques du Madeira Island sont favorables pour la production de fruits tropicaux et subtropicaux. La production de l'*Annona cherimola* à Madeira Island demeure depuis sa colonisation et aujourd'hui à un rôle important pour le développement économique avec une production annuelle autour de 1000 tonnes par ans. Il est également cultivé à petite échelle aux États-Unis, au Chili, et en Espagne (Arun Jyothi, Venkateshet *al.*, 2011).

I.2. Classification

La classification de Cronquist est une classification des angiospermes. Elle est la dernière version de classifications majeures. Elle repose essentiellement sur des critères morphologiques,

anatomiques. Ainsi les végétaux présentant un nombre élevé de ressemblance sont réunis au sein d'une même famille (Tableau 01)(Michayewi, 2013).L'*Annona cherimola* est donc classé comme suit :

Tableau 1 : Classification Cronquist de l'*Annona cherimola* (Michayewi, 2013).

Classification	
Règne	Plantea
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Magnoliidae
Ordre	Magnoliales
Famille	Annonaceae
Genre	<i>Annona</i>
Nom binominal	
<i>Annona cherimola</i> mill. 1768	
Classification phylogénétique	
Classe	Angiospermes
Sous classe	Magnoliidées
Ordre	Magnoliales
Famille	Annonaceae

I.3. Description botanique

Annona cherimola est un arbuste à croissance rapide pouvant atteindre 7 mètres de hauteur. Son port est buissonnant, étalé, les jeunes branches sont cassantes recouvertes d'un duvet de couleur rouille(Arun Jyothiet al., 2011).

L'arbre est érigé, mais peu ramifié et quelque peu arbustif ou étalé; allant de 16 à 30 pieds (5 à 9 m) de hauteur; et ses jeunes rameaux ont le poil rouillé(Arun Jyothiet al., 2011).

La *cherimola* ou annone, est très bon mûr, et son goût varie suivant le degré de maturité, la chair est consommée crue. La *cherimola* est composée à 75% d'eau. Son haut contenu en fibre en fait

un laxatif naturel. Elle est également riche en vitamines C, sodium et potassium (Arun Jyothietal., 2011).



Figure 1: Le fruit *Annona cherimola* (Arun Jyothiet al.,2011).

I.4. Culture

I.4.1. Ecologie

L'*Annona cherimola* est principalement cultivée dans les hautes terres de niveau de la mer jusqu'à environ 1400 m d'altitude. Dans la Colombie et en Équateur, elle pousse naturellement en altitude entre 1400-2000 m où la température varie entre 17-20°C (Arun Jyothiet al., 2011).

I.4.1.1. Climat

Le *cherimola* est subtropical ou tempéré doux et ne réussit pas dans les régions tropicales des basses terres. Cela nécessite de longues journées. En Colombie et en Équateur, il pousse naturellement à des altitudes comprises entre 1 400 et 2 000 m (4 600 à 6 600 pieds) et à des températures comprises entre 17 et 20 ° C. Au Pérou, le climat idéal pour le cherimola se situe entre 18 ° et 25 ° C en été et entre 18 ° et 5 ° C en hiver. Au Guatemala, les arbres naturalisés sont communs entre 1 200 et 2 500 m (4 000 et 8 200 pi), mais produisent mieux entre 1 200 et 1 800 m (4 000 et 5 900 pi) et peuvent être cultivés à une altitude pouvant atteindre 2 900 pi (900 m). L'arbre ne peut pas survivre au froid dans la Valle de Mexico à 2195 m (7 200 pieds). En Argentine, les jeunes arbres sont recouverts d'herbe sèche ou de jute pendant l'hiver. Le Cherimola peut tolérer de légères gelées. Les jeunes arbres peuvent supporter une température de 3°C, mais quelques degrés plus bas blesseront gravement ou tueraient les arbres matures. En février 1949, un petit producteur

commercial (B. E. Needham) de Glendora (Californie) signala que la plus grande partie de sa récolte avait été perdue à cause du gel et de la neige, le Cherimola subissant plus de dégâts dus au froid que ses avocats, orange ou citron (Scheldeman, 2002).

L'arbre préfère un environnement plutôt sec, comme dans le sud du Guatemala, où les précipitations sont de 127 cm et la longue saison sèche. Il n'est pas adaptable au nord du Guatemala où les précipitations de 100 pouces (254 cm) sont réparties tout au long de l'année.

Enfin, l'arbre doit être protégé des vents violents qui interfèrent avec la pollinisation et la nouaison (Scheldeman, 2002).

I.4.1.2. Sol

Le *Cherimola* fonctionne bien sur un large éventail de types de sol, allant du plus léger au plus lourd, mais semble mieux se comporter sur un sol moyennement fertile. En Argentine, la croissance est excellente sur un terreau sableux lâche et rocheux, situé entre 0.6 et 0.9 m au-dessus d'un sous-sol de gravier. Le pH optimal varie de 6.5 à 7.6. Un essai en serre sur sable a montré que la première carence nutritionnelle évoquée dans ce type de sol est le manque de calcium (Scheldeman, 2002).

I.4.1.3. Origine et distribution

Le cherimola est considéré comme un indigène des vallées intercadentes de l'Équateur, de la Colombie et de la Bolivie. En Bolivie, c'est autour de Mizque et d'Ayopaya, dans le département de Cochabamba, et autour de Luribay, de Sapahaqui et de Rio Abajo dans le département de La Paz, que le secteur fleurit le mieux. Sa culture devait s'être répandue dans l'Antiquité au Chili et au Brésil car elle s'est naturalisée sur les hauts plateaux de ces pays. De nombreux auteurs citent le Pérou comme centre d'origine, mais d'autres affirment que le fruit était inconnu au Pérou jusqu'à l'envoi des semences par P. Bernabé Cobo du Guatemala en 1629 et que treize ans après cette introduction, le cherimola a été observé en culture et vendu dans le commerce. Marchés de Lima. Les représentations souvent citées du cherimola sur les anciennes poteries péruviennes sont en réalité des images du corossol. Ou L. Cobo a envoyé des graines au Mexique également en 1629. Il y prospère entre 4 000 et 5 000 pieds (1312-1640 m) (Arun Jyothiet al., 2011).

Il est couramment cultivé et naturalisé dans les régions tempérées du Costa Rica et d'autres pays d'Amérique centrale. En Argentine, le cherimola est principalement cultivé dans la province de Tucuman. En 1757, il a été transporté en Espagne où il est resté un arbre de griffe jusqu'aux années

1940 et 1950, puis il a pris de l'importance dans la province de Grenade, dans les montagnes de la Sierra Nevada, en remplacement des nombreux orangers morts de maladie (Arun Jyothiet *al.*, 2011).

En 1790, le cherimola fut introduit à Hawaii par Don Francisco de Paulo Marin. Il est encore cultivé avec désinvolture dans les îles et naturalisé dans les forêts sèches des hautes terres. En 1785, il atteignit la Jamaïque, où il est cultivé et se présente comme une évasion sur des pentes situées entre 1 500 et 5000 m.

Il est arrivé en Haïti un peu plus tard. Les premières plantations en Italie ont eu lieu en 1797 et sont devenues une culture privilégiée dans la province de Reggio Calabria. L'arbre a été essayé plusieurs fois dans les jardins botaniques, à Singapour, vers 1878, mais n'a toujours pas survécu à cause du climat tropical. Aux Philippines, il se débrouille bien dans la province des montagnes, à une altitude supérieure à 2 460 pieds (750 m). Il a été introduit en Inde et à Ceylan en 1880 et il existe une culture à petite échelle dans les deux pays à des altitudes comprises entre 1 500 et 7 000 pieds (457-2 134 m). L'arbre a été planté à Madère en 1897, puis aux îles Canaries, à Alger, en Égypte et probablement via l'Italie, en Libye, en Érythrée et en Somalie (Arun Jyothiet *al.*, 2011).

I.4.2. Multiplication et plantation

La pollinisation naturelle est un problème avec le cherimoya car les structures mâles et femelles de chaque fleur ne mûrissent pas simultanément. Peu d'insectes visitent les fleurs. Par conséquent, la pollinisation manuelle est hautement souhaitable et doit être réalisée dans une période de 6 à 8 heures lorsque les stigmates sont blancs et collants. Il a été constaté au Chili que les premières fleurs ouvrant les grains de pollen sont chargées d'amidon, alors que les fleurs qui s'ouvrent plus tard ont un pollen plus abondant, pas de grains d'amidon et que le pollen germe facilement.

Les fleurs partiellement ouvertes sont récoltées dans l'après-midi et conservées dans un sac en papier pendant la nuit. Le lendemain matin, le pollen versé est placé dans un flacon avec du papier humide, puis transféré au pinceau sur les stigmates réceptifs. Généralement, seules quelques fleurs d'un arbre sont polonisées à chaque fois, l'opération étant répétée tous les 4 ou 5 jours afin de prolonger la saison de maturation. Si elle est disponible. Est une bonne source de pollen abondant pour la pollinisation du cherimoya. Le pollen de la pomme à sucre n'est pas satisfaisant. Les fruits issus de fleurs polonisées à la main auront une forme et une taille supérieures (Scheldeman, 2002).

Les jeunes arbres doivent être espacés de 7,5 à 9 m (25 à 30 pi) dans les fossés de 50 à 60 cm (20 à 24 po) de largeur, enrichis en matière organique. En Colombie, le maïs (maïs), les légumes, les

plantes à feuillage ornemental, les roses ou les fleurs annuelles destinées au marché sont intercalés pendant les premières années. En Espagne, les arbres sont initialement espacés de 5 m (16,5 pi) dans le but de les éclaircir ultérieurement. L'éclaircissage n'est pas toujours fait et autour du village de Jete, où sont produits les meilleurs cherimola, les arbres sont devenus si proches les uns des autres qu'ils forment une forêt. Dans les premières années, ils plantent du maïs, des haricots et des pommes de terre (Scheldeman, 2002).

L'élagage visant à éliminer les branches basses, à fournir un tronc propre jusqu'à 80 cm (32 po), à améliorer la forme et à s'ouvrir à la lumière du soleil et au contrôle des pesticides, est effectué de préférence en dormance. Après 6 mois, l'engrais (10-8-6 N, P, K) est appliqué à raison de 227 g par arbre et à nouveau 6 mois plus tard à raison de 454 g par arbre. La 3^{ème} année, la formule d'engrais est changée en 6-10-8 N, P, K et chaque année par la suite, la quantité par arbre est augmentée de 454 g jusqu'à atteindre le niveau de 2,27 kg. À partir de ce moment, ce montant est maintenu chaque année par arbre. L'engrais est appliqué dans des tranchées creusées autour de chaque arbre à une distance de 5 pieds (1,5 m) de la base, dans des tranchées de 15 cm de profondeur et de 20 cm de large; plus tard, à une distance plus grande appropriée (Scheldeman, 2002).

Les jeunes arbres sont irrigués tous les 15 à 20 jours pendant les premières années, sauf en hiver où ils doivent être autorisés à rester en dormance - idéalement pendant 4 mois. Lorsque les premiers boutons de la feuille apparaissent, l'irrigation est reprise. Lorsque les arbres sont en croissance, l'arrosage est interrompu dès que les fruits sont complètement développés (Park et al., 2011).

Au Chili, les tentatives visant à augmenter la nouaison avec des régulateurs de croissance chimiques ont été décevantes. La pulvérisation de fleurs avec de l'acide gibbérellique a augmenté la nouaison des fruits et amélioré la forme et la taille, mais provoque des fissures profondes avant maturité, bien au-delà du taux de fissuration normal des fruits provenant de fleurs naturelles ou polonisées à la main (Park et al., 2011).

I.4.3. La récolte

La première récolte des fruits de l'*Annona* a lieu, généralement, 5 ans, pour les arbres issus de semis, et au bout de 3 ans pour les plants greffés. La production augmente progressivement durant une dizaine d'années pour atteindre finalement une trentaine de fruits par arbre.

La période de récolte du *Cherimola*, s'échelonne en fonction de la variété et de la zone de culture sur la période fin septembre et fin décembre. Exceptionnellement et en année à hiver peu humide, la récolte s'étend jusqu'au mois de mars (Park *et al.*, 2011).

Les rendements de l'*Annona* varient en fonction des techniques culturales, de la fertilisation, de la variété et peut s'estimer en moyenne à 25 kg pour des arbres âgées de 6 à 8 ans et jusqu'à 150 kg pour des arbres de 15 à 20 ans.

Le rendement annuel du *Cherimola* varie de 20 à 30 tonnes dans les pays d'Amérique latine. Dans les régions de la méditerranée. Les conditions optimales de conservation ne sont pas bien déterminées. Toutefois, il n'est pas recommandé de conserver les fruits en dessous de 12°C (Park *et al.*, 2011).

I.5. Les caractères morphologiques

L'*Annona cherimola* est un semi-décidue ou arbuste ou petit arbre atteignant 7 m de hauteur. L'arborescence de l'anone est en érection mais peu ramifiée (Arun *et al.*, 2011).

I.5.1. Les feuille de l'*Annona cherimola*

Les feuilles sont brièvement caduques à semi-caduques. Elles sont alternatives, deux rangées, avec des pétioles velus minutieusement ; ovées à elliptiques, l'apex obtus a obtusément aigu au sommet, légèrement pubescentes sur la face supérieure, velouté sur la surface inférieure (Scheldeman, 2002).

I.5.2. Les fleurs de l'*Annona cherimola*

Fleurs parfumées, de couleur blanc verdâtre ou jaunâtre, solitaires ou en groupe de deux ou trois, courtes sur tiges velues, avec trois tépales pétaloïdes verdâtres, charnus, allongés et trois tépales intérieurs plus petits (Arun *et al.*, 2011).

I.5.3. Les fruits de l'*Annona cherimola*

Le fruit est conique ou un peu en forme de cœur, de 10 à 20 cm de long et jusqu'à 10 cm de largeur, poids moyen des vaisseaux : 150-500 g. La peau peut être lisse avec des marques comme impression doigt ou recouverte de protubérances coniques ou arrondies. Le fruit peut se séparer en carpelles et l'endocarpe, crème blanc, a un aspect granuleux. Dans chaque carpelle fertile on trouve des graines noires ovales, aplaties, dures et lisses, mesurant de 1.25 à 2 cm de long (Scheldeman, 2002).



Figure 2 : *Annona cherimola*: feuilles, fleurs, fruits et graines (Scheldeman, 2002).

I.6. La composition nutritionnelle de l'*Annona cherimola* :

La composition nutritionnelle de l'anone est celui d'un fruit doux mais avec une teneur élevée en glucides et faible teneur en gras (tableau 2). Sa teneur en vitamine A est modeste, mais c'est une bonne source de thiamine, riboflavine, niacine, fer, calcium et de phosphore (Arun *et al.*, 2011).

Tableau 02 : Composition nutritionnelle de l'*Annona cherimola* (Arun *et al.*, 2011).

Constituants	Quantité (par 100g de partie comestible)
Eau	77.1 g
Protéines	1.9 g
Graisses	0.1g
Glucides	18.2 g
Fibre	03 g
Cendre	0.7 g
Calcium	32 mg
RiboflavinePhosphore(vitamine B2)	37 mg
Fer	0.59 mg
Sodium	7 mg
Magnésium	17 mg
Vitamine A	0.01 UI
Thiamine (vitamine B1)	0.1 mg
Niacine	0.14 mg
Acide ascorbique (vitamine C)	5 mg
Calories	73 Kcal

I.6.1. Vitamines :

Vitamine A (carotène) : Améliore la vision, favorise la santé de la peau

Vitamine B1 (thiamine) : nécessaire à la croissance des tissus et à la production d'énergie.

Vitamine B2 (riboflavine) : action commune avec la vitamine B6 pour la formation du sang.

Vitamine B3 (niacine) : aide à régulariser le métabolisme.

Vitamine B6 : Apport en vitamine B6 intéressant (0,3 g / 100 g), indispensable à l'action de nombreuses enzymes qui interviennent dans le métabolisme des protéines et des acides aminés.

Vitamine C (acide ascorbique) : en association avec la vitamine E, combat l'infection par stimulation du système immunitaire, favorise la cicatrisation et maintient la santé de la peau (Michayewi, 2013).

I.6.2. Minéraux

Le calcium : Formation des dents et des os, contraction musculaire et santé cardiaque (Seve, 2012).

Phosphore : Croissance osseuse, en association avec le calcium (Seve, 2012).

Le fer : Apporte l'oxygène aux globules rouges et favorise la résistance à l'infection (Seve, 2012).

La cendre : La cendre est un résidu principalement basique de la combustion, de l'incinération, de la pyrolyse de diverses matières organiques et minérales, et par extension de produits tels que le charbon, le lignite, le coke ou de divers déchets brûlés dans les incinérateurs, en plein air ou dans les cheminées ou fours (Nwaoguikpeet *al.*, 2010).

Le potassium : Un apport en potassium intéressant (287 mg / 100 g) dont le rôle est de maintenir l'équilibre acido-basique de l'organisme et la transmission de l'influx nerveux. Il intervient également à la contraction musculaire (Seve, 2012).

Le magnésium : L'apport en magnésium (17 mg / 10 g) permet de compléter les besoins estimés à 5 mg par kg de poids (soit environ 350 mg / jour). Ce minéral a un rôle également très important dans le bon fonctionnement de nos cellules, la contraction des muscles et la formation des anticorps (Jenuwein, 1988).

I.6.3. Les protéines

L'ordre de la séquence des acides aminés distingue une protéine d'une autre. La séquence en acides aminés détermine la forme tridimensionnelle de la protéine. Une modification de la séquence en acides aminés dans une protéine change sa structure tridimensionnelle.

Les Protéines ont de nombreux rôles dans la cellule: catalyse de réactions, intégrité structural, transport de molécules, mouvement, fixation de molécules (Seve, 2012).

I.6.4. Les graisse

Les lipides sont des molécules organiques insolubles dans l'eau (liposoluble) et solubles dans les solvants organiques apolaires comme l'alcool, le benzène et le chloroforme. A l'instar des glucides, tous les lipides contiennent du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène (moins présent que dans les glucides). Dans certains lipides complexes, on trouve du phosphore.

Les lipides comprennent les triglycérides (graisses neutres), les phospholipides et les stéroïdes(Berrada, 2009).

Ce sont des molécules organiques insolubles dans l'eau (liposoluble) et solubles dans les solvants organiques apolaires comme benzène, chloroforme, éther, ...

- Ils sont caractérisés par la présence dans la molécule d'au moins un acide gras ou chaîne grasse.
- Sont rattachés aux lipides, en raison de leur insolubilité dans l'eau, le cholestérol, les stéroïdes, la vitamine D, qui sont des dérivés polyisopréniques (Touitou, 2005).

I.6.5. Les glucides

Les glucides ou encore appelés hydrates de carbone, sont des molécules organiques caractérisées par la présence de chaînons carbonés porteurs de groupements hydroxyles, et de fonctions aldéhydes ou cétoniques, et éventuellement de fonctions carboxyle ou aminé. Ils se divisent en oses et osides.

Ce sont des molécules organiques dont les carbones sont porteurs :

- De fonctions alcools (alcool secondaire, alcool primaire).
- D'une fonction aldéhyde ou cétonique (fonction carbonyle).
- Parfois d'une fonction acide ou aminée.

Au total, il s'agit d'aldéhyde ou de cétone polyhydroxylées car un carbone est porteur soit d'un aldéhyde soit d'une cétone, tous les autres étant porteurs de fonctions alcools (Touitou, 2005).

I.6.6. Les fibres alimentaires :

Une source très intéressante en fibres (3 g / 100 g) qui lui confère des propriétés laxatives, permettant ainsi de résoudre les problèmes de constipation (Jenuwein, 1988).

I.7. Usage

L'*Annona* est essentiellement un dessert qui est consommé frais. Il peut également être utilisé pour faire de la crème glacée, des milkshakes ou des sorbets et est aussi transformé en yaourts, jus et flans. En raison de ses caractéristiques enzymatiques, l'anone ne peut pas être soumise à des procédés thermiques et pour son traitement s'est conseillé d'utiliser la réfrigération ou bien la congélation avec l'ajout d'antioxydants pour éviter l'oxydation enzymatique (Arun *et al.*, 2011).

Traditionnellement, les graines d'anone sont broyées et utilisées comme insecticides, surtout pour tuer les poux et la guérison des affections cutanées parasitaires. Une décoction de l'écorce est utilisée comme un tonique et un remède contre la diarrhée. La racine est mâchée pour soulager les maux des dents et une décoction de la racine est utilisée pour traiter les fièvres. Une décoction de feuilles est utilisée pour traiter les vers. Ces derniers servent aussi à tanner le cuir (Scheldeman, 2002).

Biochimiquement, les graines d'anones sont une source importante d'acétogénines, un type d'alcaloïde, qui montre des activités antiparasitaires et cytotoxiques qui sont utilisées dans l'industrie pharmaceutique (Garcia *et al.*, 2015).

I.8. Constituants phytochimiques

L'*Annona cherimola* contient des alcaloïdes, des flavonoïdes, des glycosides, des saponines, des tanins, des glucides, des protéines, des composés phénoliques, des phytostérols et des acides aminés (Arun *et al.*, 2011).

Les constituants volatils de l'écorce de l'*Annona cherimola* ont été identifiés à partir de l'huile essentielle obtenue par distillation et étudiés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et spectrométrie de masse (SM). Les principaux composés ont été identifiés comme butanoate de méthyle, butanoate de butyle, 3-méthyle butanoate et 5-hydroxyméthyl-2-furfural (Arun *et al.*, 2011).

I.9. Propriété médicinales du fruit *Annona cherimola* :

La *cherimola* est composée à 75% d'eau. Son haut contenu en fibre en fait un laxatif naturel. Elle est également riche en vitamines C, sodium et potassium. Elle est recommandée pour les personnes souffrant d'hypertension artérielle, de problèmes cardiaques et de cholestérol(Arun *et al.*, 2011).

Comme chez les autres fruits de la famille des annonacées, le fruit (notamment les graines et la peau) contient des acétogénines neurotoxiques telles que l'Annonacine, contenue également dans le corossol et impliquée dans des cas de parkinsonisme atypique en Guadeloupe.

Ce fruit représente un grand apport calorique, il est donc vivement recommandé pour les sportifs, les enfants, les femmes enceintes, les mères en période d'allaitement et les personnes âgées(Lacombe, 2017).

I.9.1. Amélioration de la santé cardiovasculaire

Grâce à sa haute teneur en potassium, *le cherimola* permet d'améliorer la santé cardiaque. C'est de plus un régulateur naturel de la pression artérielle. Il est également riche en antioxydants qui contrôlent les niveaux de cholestérol (Jenuwein, 1988).

Sa faible teneur en sodium et en graisses est une autre des raisons pour lesquelles il faut en consommer. Surtout pour les personnes qui souffrent d'hypertension artérielle et autres altérations cardiaques (Boyer, 2009).

I.9.2. Antimicrobien naturel

Un autre des bienfaits du *cherimola* est sa capacité à agir comme un protecteur naturel contre les parasites.

En effet, ses propriétés sont dues à sa haute teneur en fibres, en niacine et en citotoxines. De plus, il nous apporte de grandes quantités de vitamines C, un antioxydant naturel qui aide ainsi l'organisme à résister aux infections (Boyer A, 2009).

I.9.3. Grand allié pour perdre du poids

Manger du *cherimola* apporte une sensation de satiété. C'est idéal si vous cherchez à perdre du poids sans pour autant cesser de manger sainement et des choses délicieuses (Boyer, 2009).

Vous pouvez l'ajouter dans votre régime au goûter, au dessert ou après votre séance de sport. Il est également recommandé pour les personnes qui souffrent de constipation grâce à son effet laxatif (Bories *et al.*, 1991).

I.9.4. tranquillisant et antidépresseur :

Le *cherimola* est un régulateur du système nerveux. Cela signifie qu'il fonctionne comme un anxiolytique et un tranquillisant, et il s'agit donc d'un grand remède maison pour les personnes compulsives (Verheij, 1991).

Le *cherimola* contient un alcaloïde qui régule la sécrétion de chimiques qui provoquent la dépression (Verheij, 1991).

I.9.5. protection contre l'ostéoporose :

Ce fruit contient de forts niveaux de minéraux qui fonctionnent comme les processus de rétablissement de multiples maladies :

-Apporte du fer qui aide au rétablissement de l'anémie.

-Riche en calcium, ce qui est idéal pour les personnes qui souffrent de décalcification ou d'ostéoporose.

-Il est également riche en phosphore et aide donc à renforcer la mémoire (Jenuwein, 1988).

I.9.6. Idéal pendant la grossesse

Manger du *cherimola* est une excellente idée pendant la grossesse car, en plus d'être délicieux, il apporte une forte valeur nutritionnelle.

Il contient des nutriments qui contribuent au développement du bébé, tels que :

- Les graisses essentielles
- Les fibres
- Les hydrates de carbone
- Les protéines
- Les minéraux
- Les vitamines

Le *cherimola* aide au développement du cerveau du fœtus, de ses nerfs et même de son système immunitaire (Jenuwein, 1988).

La consommation régulière de ce fruit réduit le risque de fausse couche et aide à atténuer les nausées du début de grossesse (Jenuwein, 1988).

I.9.7. régulateur de la digestion :

En plus d'être un fruit facile à digérer, le cherimola est idéal pour les personnes qui :

- Se sentent fragiles
- Ont passé plusieurs jours à l'hôpital
- Dont l'estomac ne digère pas bien certains aliments
- Présentent des dyspepsies (Pijperset *al.*, 1985).

Sa faible teneur en graisses et sa haute teneur en fibres aident à éliminer le mauvais cholestérol (LDL) et absorbent les acides biliaires (Jenuwein, 1988).

C'est très notamment utile chez les personnes qui souffrent de troubles de la vésicule biliaire.

De plus, c'est un excellent laxatif naturel, car les fibres régulent aussi le transit intestinal et la flore bactérienne (Pijperset *al.*, 1985).

I.9.8. Un antioxydant

Les *cherimola* sont d'excellentes sources d'antioxydants, de vitamine C et de composés polyphénols (Jenuwein, 1988).

Ils luttent contre l'oxydation liée aux maladies telles que le cancer, le vieillissement prématuré, l'athérosclérose et les maladies neuro-dégénératives (Jenuwein, 1988).

I.9.9. Excellent aliment pour les petits enfants

Les pédiatres recommandent d'ajouter du cherimola dans les purées ou les jus des enfants grâce à sa haute teneur nutritionnelle, qui contribue à leur bon développement (Scheldeman, 2002).

Il est également idéal dans le traitement des diarrhées congénitales chroniques (Scheldeman, 2002).

I.10. Autres effets

- **La peau** : Si on la fait cuire, elle fonctionne comme un traitement maison pour la colite chronique.
- **Les graines** : On les utilise dans les traitements pour les pellicules et comme des antiémétiques.
- **Les racines** : Leur infusion servent de fort purgatif.
- **Les feuilles** : Utilisées sous forme de thé, elles aident à calmer les spasmes et les crampes. C'est aussi un remède maison pour l'anémie, la colite et la dénutrition.
- **Le fruit mûr** : On peut le manger en morceaux ou le préparer en purée. Il contribue au traitement de la dénutrition, de l'anémie ou de la faiblesse générale.
- Le cherimoya est un fruit incroyable qui est utilisé à des fins thérapeutiques depuis l'Antiquité ([Monica et al., 2012](#)).

C'est un excellent aliment pour les sportifs grâce à son action sur le fonctionnement du système maculaire et parce qu'il stimule l'absorption des nutriments.

Souvenez-vous cependant de ne pas trop en consommer. Malgré ses innombrables propriétés, il est également riche en sucre, et mieux vaut en ingérer qu'une portion par jour ([Monica et al., 2012](#)).

Chapitre II :

Généralités sur la toxinogénèse

Chapitre II : Généralités sur la toxinogénèse

II.1 Description des microorganismes étudiés

Les bactéries pathogènes pour l'homme sont à l'origine de multiples maladies infectieuses, qui en particulier dans les pays en voie de développement, font encore des ravages. En 1995, les maladies infectieuses ont été responsables d'un tiers (17 millions de personnes) des décès dans le monde.

Une bactérie est un parasite, si elle vit aux dépens d'un autre organisme, saprophyte dans le cas inverse : l'appellation pathogène caractérise un agent infectieux qui induire une maladie infectieuse, le passage de l'état de saprophyte à celui de parasite est en fonction à la fois de la bactérie qui acquiert une virulence nouvelle et de la défaillance des défenses de l'hôte (immunodépression par exemple). A l'état normal, l'homme héberge sur sa peau, ses muqueuses, dans ses voies aériennes et son tube digestif un grand nombre de bactéries saprophyte qui ne provoquent pas d'infection.

Le pouvoir pathogène d'une bactérie est dû à son aptitude propre à envahir les tissus en résistant aux défenses de l'hôte et en se multipliant (virulence). Il peut également être dû à l'aptitude du germe à sécréter une toxine, c'est une macromolécule douée d'une action toxique chez l'homme (ex : toxine diphtérique et tétanique), on parle alors de toxicité (Labayle, 2001).

II.2. Physiologie

II.2.1 Les *Bacillus cereus* pathogènes

Bacillus cereus c'est une bactérie pathogène à coloration gram positive, de métabolisme aéro-anaérobie facultatif et capable de produire des spores dans des conditions défavorables de croissance. C'est un micro-organisme mobile, en forme de bâtonnet de grand taille ($> 1.0 \mu\text{m}$), parfois en chaînette et aux colonies à l'aspect cireux et opaque sur milieu gélosés. C'est également une bactérie ubiquitaire retrouvée principalement sous forme de spores, dans un grand nombre d'environnement tels que le sol (Arnesenet *al.*, 2008), la surface des végétaux (Kouméet *al.*, 2013) ou encore l'air ambiant (Figure 3)(Lues *et al.*, 2007).

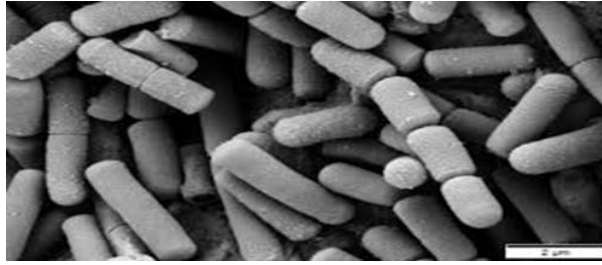


Figure 03 : *Bacillus cereus* (Lues *et al.*, 2007).

II.2.1.1. Pouvoir pathogène

Les symptômes résultats d'une infection à *B. cereus* peuvent être de type émétiques, caractérisé par des nausées et vomissements, ou de type diarrhéiques (Le lay, 2014).

Les symptômes émétiques :

Résultats de l'ingestion de la céréulide, une toxine thermostable produite par les cellules végétatives de *B. cereus* lors de sa croissance sur l'aliment avant ou après traitement thermiques. Les aliments amylacés (pâtes, riz...) sont des matrices alimentaires favorables au développement de *B. cereus* qui ont été régulièrement associées à des syndromes émétiques (Le lay, 2014).

Les syndromes diarrhéiques

Déclenché suite à l'ingestion d'environ 10^5 à 10^8 UFC par gramme d'aliment et est causé par la production, dans l'intestin, d'un ensemble de toxines lors de la reprise de croissance de cellules végétatives ou de spores de *B. cereus* ayant survécu au passage de l'estomac (Le lay, 2014).

II.2.2. *Bacillus subtilis*

Bacillus correspond à des bactéries en forme de bâtonnets (1.2 à 10 μ m de long), chimio-hétérotrophe, généralement mobiles (présence de flagelles péritriches), habituellement présente dans le sol à des températures modérées (5°C – 65°C). Ce sont des bactéries aérobies strictes ou facultatives (Figure 4)(Loison, 2013).



Figure 04 : Microscopie électronique de *Bacillus subtilis* (Loison, 2013).

Dans sa niche écologique, elle doit souvent faire face à des stress et des carences en nutriments, ce qui l'a conduite à développer diverses stratégies afin de survivre en conditions défavorables, elle est notamment capable de former des spores, qui lui permettent de survivre longtemps dans des conditions extrêmes telles que la dessiccation, la chaleur ou les radiations. Au cours de l'évolution, sa compétence naturelle lui a également conféré une capacité d'adaptation par recombinaison.

A court terme, la bactérie est aussi capable d'affronter des situations telles que les stress osmotiques, oxydatifs, acides ou les chocs thermiques, en particulier grâce à des régulateurs globaux de réponse au stress, les facteurs sigma (Loison, 2013).

II.2.3. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie du genre : coque, gram positif arrondie, en amas réguliers ou par deux, de 0.7 à 1 μm de diamètre, immobile, dépourvus de spores et de capsule.

Elles apparaissent le plus souvent en amas dits en grappes de raisin et sont coagulase positive pour *Staphylococcus aureus*, négative pour les autres (Figure 5)(Guiraud, 1998).

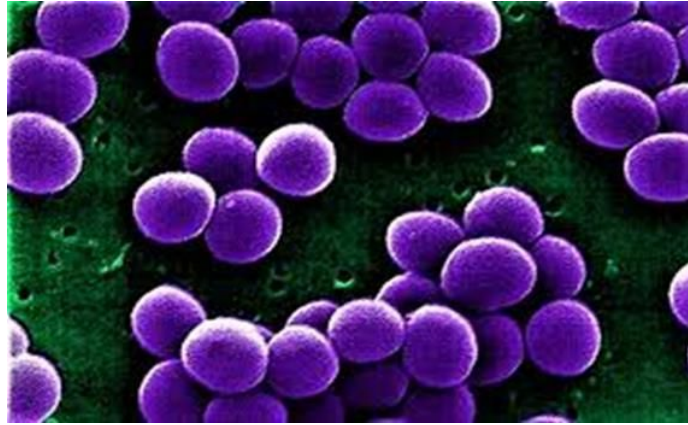


Figure 05 : *Staphylococcus aureus* (Guiraud, 1998).

Une vingtaine d'espèces de la famille de *Staphylocoques* sont actuellement identifiées, dont l'espèce principale : *Staphylococcus aureus*, responsable de nombreux infections humains et animales (Guiraud, 1998).

II.2.3.1. Transmission

La transmission interhumaine s'opère généralement par contact direct (manu partage). Elle peut aussi être indirecte par les vêtements.

Des épidémies de caractère nosocomial peuvent survenir (Nauciel et Vildé, 2005).

II.2.3.2. Pouvoir pathogène

II.2.3.2.1. Lésions suppurées

Les plus fréquentes sont cutanées et sous-cutanées : folliculite, furoncles, anthrax, impétigo bulleux, panaris, surinfection de plaies traumatiques ou postopératoires. *S. aureus* est aussi responsable de mastites chez les femmes qui allaitent.

S. aureus tient également une place dominante dans les infections osseuses primitives (ostéomyélite) ou post-chirurgicales, ainsi que dans les arthrites suppurées.

Des atteintes pulmonaires peuvent s'observer notamment chez les nourrissons et chez les malades sous ventilation assistée, elles peuvent parfois se compliquer de pleurésie purulente (Nauciel et Vildé, 2005).

II.2.3.2.2. Septicémies et endocardites

Les lésions suppuratives peuvent se compliquer de septicémie. Une forme particulière est la *Staphylococcie* maligne de la face. Elle a pour origine furoncle de la lèvre ou de la narine qui se complique d'une thrombophlébite suppurée. Les toxicomanes utilisant la voie intraveineuse peuvent présenter des septicémies souvent accompagnées d'une endocardite du cœur droit. En milieu hospitalier, les septicémies à *S. aureus* représentent une proportion importante des septicémies d'origine nosocomiale. La porte d'entrée est souvent un cathéter intravasculaire. Toute fois certaines septicémies surviennent sans porte d'entrée apparente (Nauciel et Vildé, 2005).

Les septicémies à *S. aureus* se compliquent volontiers de métastases septiques notamment au niveau du poumon et de l'appareil ostéo-articulaire, plus rarement au niveau de l'appareil urinaire ou du système nerveux centrale (Nauciel et Vildé, 2005).

II.2.3.2.3. Manifestation d'origine toxique

Staphylococcus aureus est responsable d'intoxications alimentaires à incubation courte (quelques heures). Ces intoxications sont dues à l'ingestion d'aliments contaminés par le personnel les manipulant et conservés trop longtemps à température ambiante (Nauciel et Vildé, 2005).

L'infection à *S. aureus* est parfois à l'origine d'un syndrome dit de choc toxique Staphylococcique. Ce syndrome associe une fièvre élevée, un rash scarlatiniforme, de la diarrhée et une hypotension accompagnée de signes de défaillance poly viscérale. Il entraîne une certaine mortalité. Il peut s'observer dans deux circonstances. Dans la première, le syndrome survient pendant les règles chez des femmes utilisant des tampons hyper absorbants (Nauciel et Vildé, 2005).

Dans le second, il s'agit de sujets de l'un ou l'autre sexe. Présentant une suppuration localisée à *S. aureus*. Dans certains cas l'infection Staphylococcique peut s'accompagner d'une éruption scarlatiniforme sans état de choc associé.

L'infection cutanée à *S. aureus* peut se traduire chez le nouveau-né par une dermite exfoliative (maladie de Ritter) et chez le nourrisson par un syndrome sévère dû à un décollement étendu de la couche superficielle de l'épiderme (aspect de peau ébouillantée)(Nauciel et Vildé, 2005).

II.2.4. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie qui appartient à la famille des Enterobacteriaceae, cette famille regroupe des bacilles droits à bout arrondi, ce sont des bacilles à coloration de Gram négative, mesurant de 0.3 à 1.0 µm de diamètre sur 1.0 à 6.0 µm de long, non sporulés, anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase (Figure 6) (Kaperet *al.*, 2004).



Figure 06 : *Escherichia coli* (Kaperet *al.*, 2004).

II.2.4.1. Pouvoir pathogènes

II.2.4.1.1. Infection urinaire

Escherichia coli est la bactérie le plus souvent en cause dans les infections urinaires communautaires qu'elles soient basses (cystite) ou hautes (pyélonéphrite). L'infection des voies urinaires se fait en générale par voie ascendante. Elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté de l'urètre. La gravidité augmente le risque de pyélonéphrite.

Chez l'homme, l'infection est également secondaire à un obstacle sur les voies urinaires. Elle peut se compliquer de prostatite. *E. coli* est souvent impliquée dans les infections urinaires nosocomiales (Nauci *el et* Vildé, 2005).

II.2.4.1.2. Infection intestinale

E. coli peut être responsable de gastro-entérites ayant des traductions cliniques variables : diarrhée d'allure banale, diarrhée peut entrainer assez rapidement un état de déshydrations. Dans certains cas (surtout chez l'enfant) le diamètre peut être suivi d'un syndrome hémolytique et urémique.

Les diarrhées dues *E. coli* sont probablement peu fréquente dans nos régions actuellement. Elles sont plus fréquentes dans les pays en voie de développement peuvent atteindre les voyageurs qui les visitent (tourista). Elles relèvent de mécanismes physiopathologiques multiples qui seront discutés plus loin (Nauciel et Vildé, 2005).

II.2.4.1.3. Infection néonatale

Elle peut se traduire par une méningite ou une septicémie (Nauciel et Vildé, 2005).

II.2.4.1.4. Infection diverses

E. coli est impliqué dans de nombreuse infection à point de départ digestif ou urinaire : suppurations localisées ou septicémies. Il peut s'agir d'infections communautaires ou nosocomiales (Nauciel et Vildé, 2005).

II.2.5. *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *Pseudomonas*, de la famille des Pseudomonadaceae, regroupe des bactéries mobiles aérobies Gram négatif, de 2 à 4 µm de longueur, en forme de bâtonnets renflés, avec un flagelle polaire qui joue un rôle important dans la pathogénicité (Wilcox, 2007). Ces bactéries sont à sporulées et peuvent produire des pigments (Figure 7)(Stoveret al., 1986).



Figure 07 : *Pseudomonas aeruginosa* (Stoveret al., 1986).

P. aeruginosa peut sécréter un vaste éventail de toxines extracellulaires, notamment l'exotoxine A et des entérotoxines (Liu, 1974). D'autres substances comme l'acide hydrocyanique, des enzymes protéolytiques, des biofilms et des substances hémolytiques peuvent également contribuer à la pathogénicité de cette espèce. La combinaison de toxines et de substances dangereuses et un facteur qui joue un rôle déterminant dans la forte virulence de *P. aeruginosa* dans différents hôtes (Stoveret al., 1986).

II.2.5.1. Pouvoir pathogène

La bactérie n'est pas pathogène pour le sujet normal, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques (en particulier chez les sujets atteints de mucoviscidose), pulmonaire (chez les immunodéprimés ou les malades ventilés), oculaires (kératite ou endophtalmie), ostéo-articulaire.

Elle peut aussi surinfecter des lésions cutanées (brûlure), des plaies traumatiques ou postopératoires, provoquer des otites externes (pouvant évoluer de manière invasive chez les sujets âgés et diabétiques) (Nauciel et Vildé, 2005).

II.2.6. *Candidat albicans*

Candidat albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes (Chu *et al.*, 1993), se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore) (Graseret *al.*, 1996), formant ainsi des colonies blanches crémeuses.

Les levures de genre *Candidat* sont la cause de pathologies graves et dont la fréquence reste constante (Pfaller et Diekema, 2007) malgré le développement de nouveaux moyens thérapeutiques, en particulier chez des patients immunodéprimés (Beneiet and Colagreco, 1994).

II.2.6.1. Morphologie *Candidat albicans*

Au niveau morphologique, cette levure peut mesurer de 3 à 15 μm , et est caractérisée par un polymorphisme que l'on peut retrouver *in vitro* et *in vivo* et qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire. En effet, certains paramètres tels que le pH, la température ou encore la richesse du milieu de culture influencent l'aspect morphologique que peut prendre *Candidat albicans* (Figure 8) (Lagane, 2007).

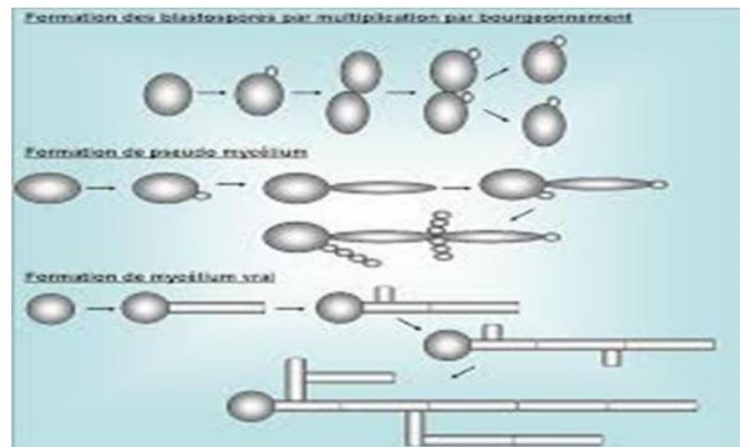


Figure 08 : Morphologie de *Candida albicans* (Alan *et al.*, 1986).

II.2.6.2. Pathogénicité et toxicité

C. albicans est un microorganisme commensal qui fait partie des flores microbiennes endogènes gastro-intestinale, oropharyngée et génitale féminine (Ryan, 2004).

Cependant, il s'agit aussi chez l'humain d'un pathogène opportuniste (Odds, 2010) pouvant causer des affections potentiellement mortelles chez les sujets immunodéprimés comme immunocompétents (Schell, 2006). La manifestation clinique la plus fréquente de l'infection à *C. albicans* est la candidose buccale.

Candidat albicans peut aussi entraîner des infections des ongles (paronychie et onychomycose à *Candidat*), des atteintes superficielles des muqueuses, des infections cutanées consécutives à une macération de la peau (plis inguinaux et région fessière, chez le jeune enfant) et des infections oculaires (enophtalmies, etc) (Odds, 2010).

Chapitre III :

Matériels et méthodes

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1 Objectifs de l'expérimentation

L'objectif général de ce travail est d'étudier l'effet antibactérien du fruit *Annona cherimola*. L'étude comporte deux parties :

Partie 1 : extraction de la pulpe à partir du fruit *Annona cherimola*.

Partie 2 : Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro d'extrait d'*Annona cherimola*.

III.2 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de cette étude est un fruit *Annona cherimola* acheté en France en janvier 2019 (Figure 09).



Figure 09 : Le fruit *Annona cherimola*.

III.3 Origines des souches testées

Les souches testées utilisées dans ce travail proviennent de la collection du laboratoire LMBAFS.

Tableau 3 : La nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées.

Souches	Références
Les souches Gram négatif	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
Les souches Gram positif	
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 33862
Levure	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231

III.4 Partie expérimentale

III.4.1 La méthode d'extraction

La méthode d'extraction a été effectuée selon la méthode d'Annoket *al.*, (2012) qui consiste à nettoyer, découper et broyer (Moulinex) 163.2 g de l'*Annona cherimola* auxquels on ajoute 250 ml de méthanol pur 99% avant de laisser le mélange sous agitation pendant 24h à température ambiante et à l'obscurité. L'extrait brut est ensuite filtré par papier Whatman N°4, puis le résidu a été récupéré dans un autre récipient avec 250 ml d'acétate d'éthyle 99% et laissé sous agitation pendant 30 mn puis les suspensions sont encore filtrées par un papier Whatman N°4. Les deux filtrats obtenus ont été mélangés pour être séchés par évaporation du solvant à 45°C avec un rota-vapeur (Figures 10 et 11).

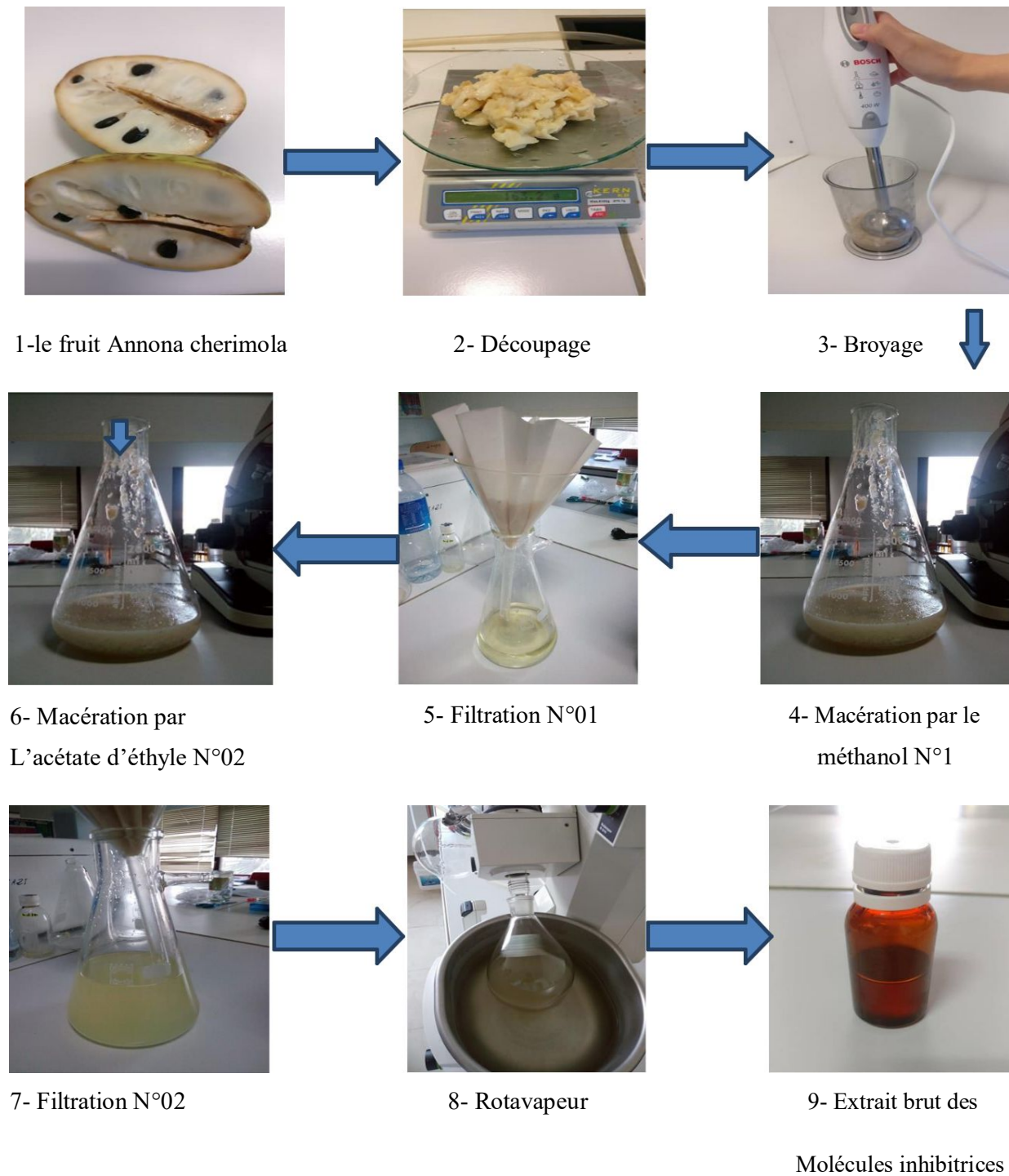


Figure 10 :Les étapes de l'extractionméthanolique d'Annona cherimola (Annoket *al.*, 2012).

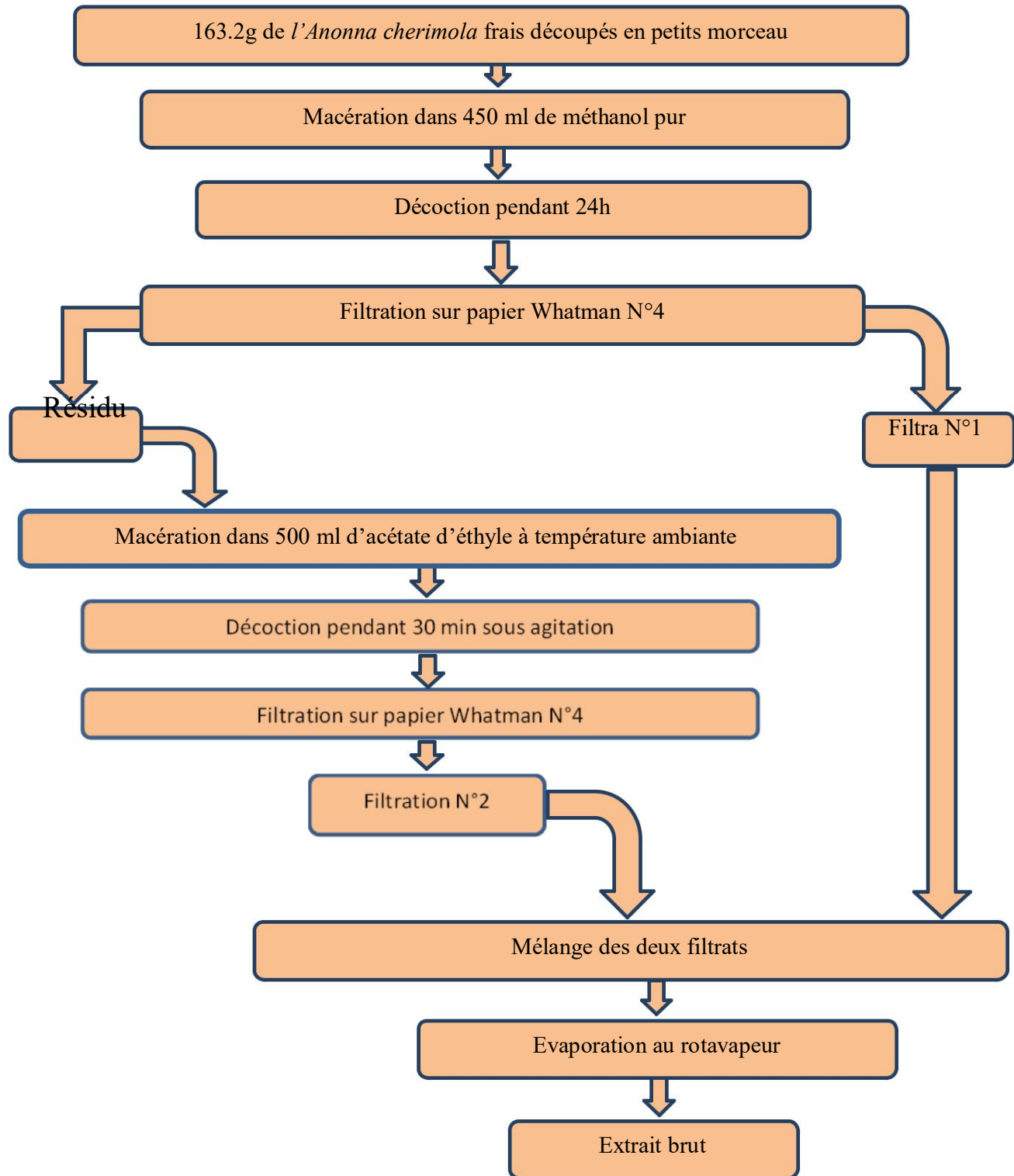


Figure 11: Méthode d'extraction méthanolique de l'*Annona cherimola* (Annoket *al.*, 2012).

III.5. Antagonisme

III.5.1. Les milieux de cultures utilisées

Milieu bouillon nutritif (pour la réactivation des souches pathogènes).

Milieu de Mueller Hinton

Milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogène envers les antibiotiques et les sulfamides. Il constitue également un excellent milieu de base pour la fabrication de géloses au sang

III.5.2. Réactivation de souches indicatrices

Préparation de l'inoculum

L'inoculum a été préparé en transférant 10 µl de culture conservé a 10 ml de bouillon nutritif de chaque bactérie pathogène testé et incubée 37°C pendant 24h. Puis ajuster la densité optique de 0.08 à 0.1 lue la longueur d'onde de 600 nm qui correspond à 10⁸ UFC/ml (Kishor, 2005).

III.5.3. Méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983)

La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie (antibiogramme et antifongigramme), repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu semi solide (gélose molle), l'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition, la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Dans la technique de diffusion il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit testé (Broadasky *et al.*, 1976).

Cette méthode consiste à couler 21 ml Mueller Hinton molle avec 100 µl d'une culture jeune de 18h d'incubation de nombre de 10⁷ UFC/ml (la densité optique 0.08-0.1) sur une boîte de pétri. Après solidification à température ambiante dans une zone stérile, des puits sont creusé à l'aide d'un embout jaune stérile. Généralement ont réalisé 1 puits par boîte de 6 mm de diamètre (chaque test est réalisé en triplicat). Un volume de 80 µl de l'extrait brut est mis dans les puits.

Les boîte de pétri sont incubées à 37°C pendant 24h pour permettre la bonne diffusion de la substance antibactérienne (pré-diffusion) (Doumandjietal., 2010).

La présence de zone d'inhibition a formées autour des puits est examinée après 18 à 24h d'incubation (Hwanhlemetal., 2011).

La lecture des résultats se fait par la mesure de diamètre des zones d'inhibition apparaissant ; il sera considéré comme positif si le diamètre est supérieur à 2 mm (Figure 12).

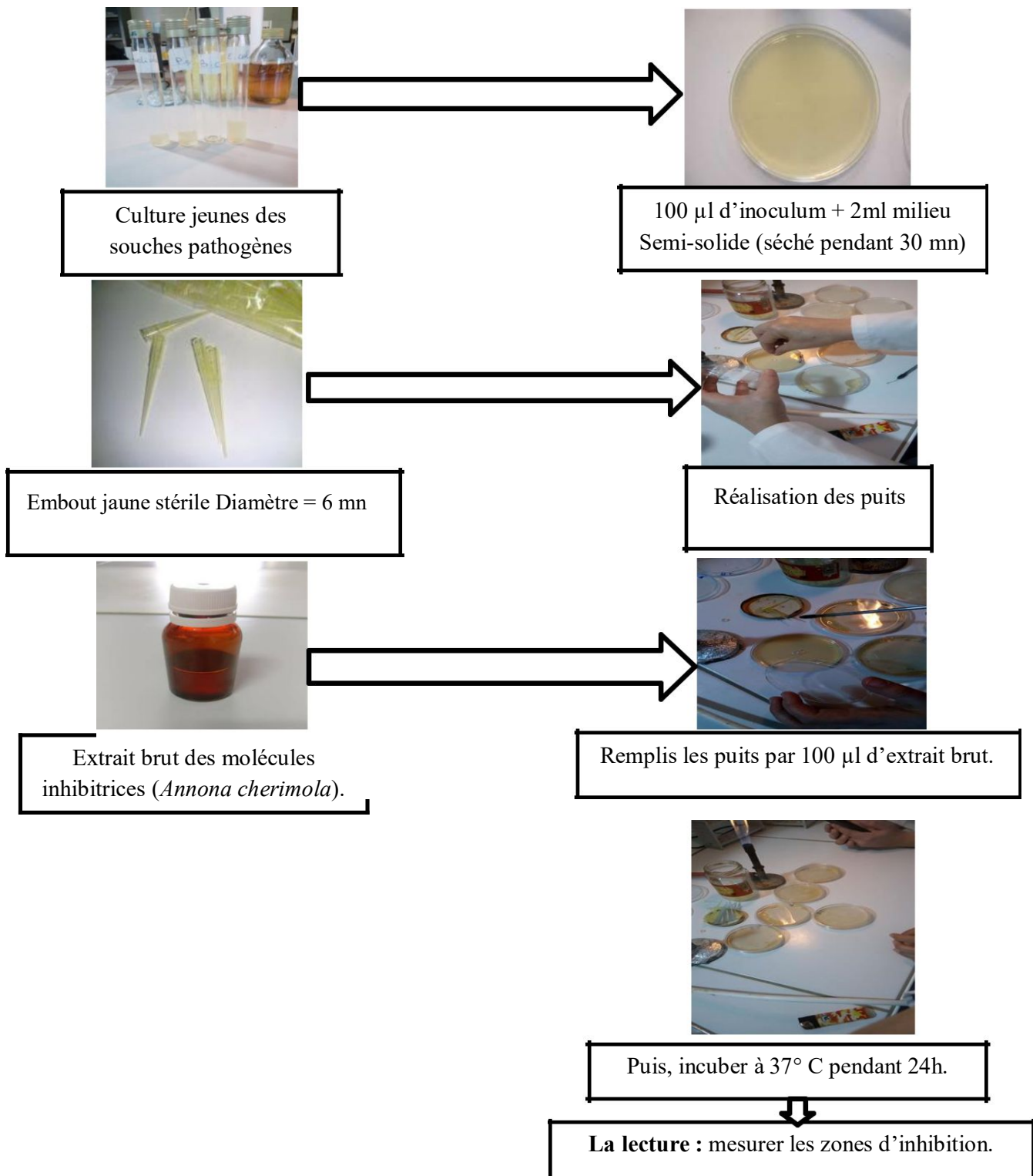


Figure 12 : La méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983).

III.5.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La détermination de la CMI a été réalisée par la méthode de micro dilution sur milieu liquide selon CLSI (Clinical and LaboratoryStandars Institue, 2008).

Dans cette technique, des microplaques à fond rond (96 puits) sont utilisées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice, dans chaque ligne de la microplaque, est déposé 100 µl du bouillon nutritif. Ensuite, 200 µl de l'extrait brut à tester sont introduits dans le premier puits. Après avoir bien mélangé le contenu du premier puits, 100 µl est prélevé, puis déposé dans le 2ème puits, et ainsi de suite jusqu'au 11ème puits ou 100 µl restants sont éliminés. Par conséquent, nous obtenons une dilution $\frac{1}{2}$ entre chaque puits. Le dernier puits représente le témoin négatif : le puits N°12 contient uniquement le bouillon nutritif.

Enfin, 100 µL de l'inoculum (1×10^6 UFC/ml) est ajouté dans chaque puits. Les microplaques sont scellées et incubées à 37°C pendant 24h (Figure 13).

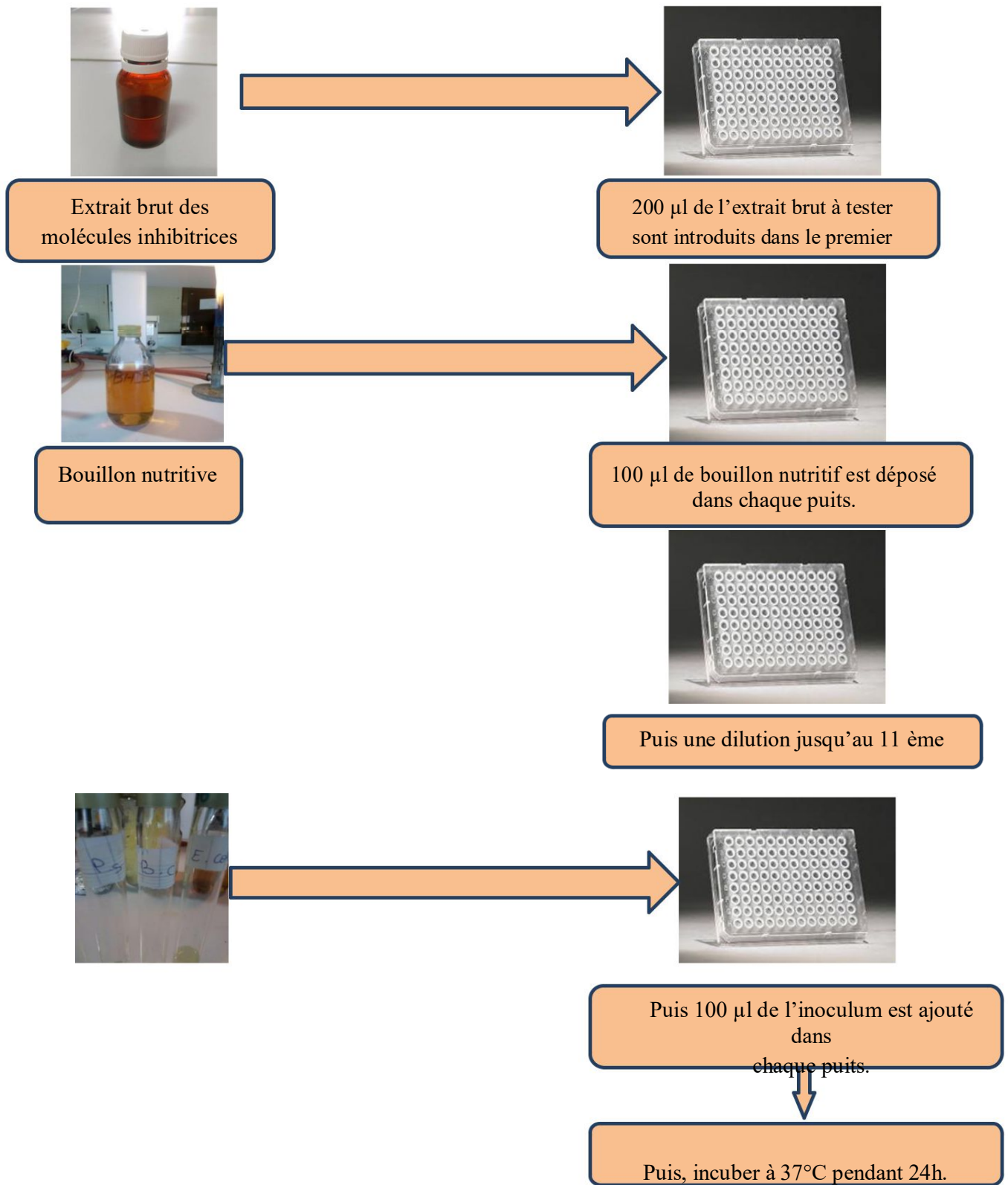


Figure 13 : Méthode de détermination de la CMI (CLSI, 2008).

Chapitre IV :

Résultats et discussion

Chapitre IV: Résultats et discussion

IV.1. Pouvoir l'activité antibactérienne d'*Annona cherimola*

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobienne d'extrait brut d'*Annona cherimola* par la méthode de diffusion en puits Agar WelleDiddision Test AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983) sur un milieu gélosé solide, Mueller Hinton, c'est le milieu le plus utilisé pour faire ces tests d'antagonisme.

L'activité antimicrobienne de l'*Annona cherimola* a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant l'extrait brut de l'*Annona cherimola* à tester *vis-à-vis* de 06 microorganismes testés qui proviennent de la collection du laboratoire LMBAFS, dont trois (3) bactéries gram positif (+) : *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, et deux (2) bactéries Gram négatif (-) : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 Ainsi qu'une levure : *Candida albicans* ATCC 10231.

IV.1.1. Méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983)

C'est la technique de base utilisé pour étudier la capacité substance à exercer un effet antimicrobien.

IV.1.1.1. Diffusion sur agar semi-solide par la méthode des puits AWDT

Les résultats concernant les propriétés antimicrobiennes dans cette test ont montré que l'extrait brut de l'*Annona cherimola* influence totalement sur *Escherichia coli* ATCC 25922, et *Candida albicans* ATCC 10231, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus Subtilis* ATCC 6633 (Figure 13).

Une faible activité antimicrobienne a été enregistrée *vis-à-vis* des souches, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Staphylococcus aureus* ATCC 338625 (Figure 15).

L'extrait brut d'*Annona cherimola* a montrée des diamètres d'inhibition compris entre 45.00 ± 1.53 mm à 00 ± 00 mm *vis-à-vis* toutes les souches. Ainsi qu'il possède une activité inhibitrice importante *vis-à-vis* la souche *Bacillus subtilis* ATCC 6633, qui a obtenu le diamètre d'inhibition 45 ± 1.00 mm. Cette inhibition elle respectivement avec les souches pathogènes. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 a enregistré un diamètre d'inhibition de l'ordre de 43.00 ± 1.00 mm, *Escherichia Coli* ATCC 25922 a marqué 42.00 ± 1.00 mm, et *Candida albicans* ATCC 10231 a marqué 34 ± 1.00 mm (Figure 13;14).

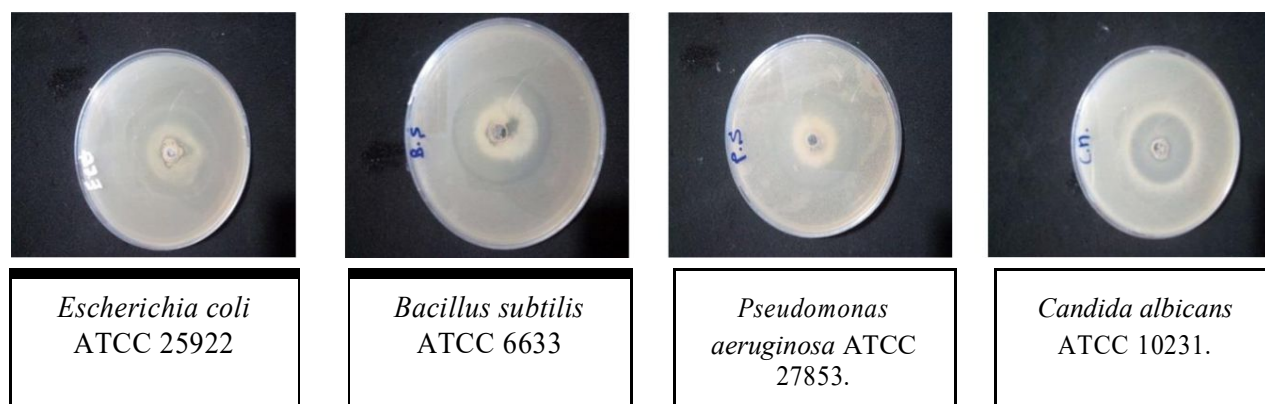


Figure 13 : Pouvoir antibactérienne d'extrait brut (*Annona cherimola*) par la méthode de diffusion en puits vis-vis de *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, et *Candida albicans* ATCC 10231.

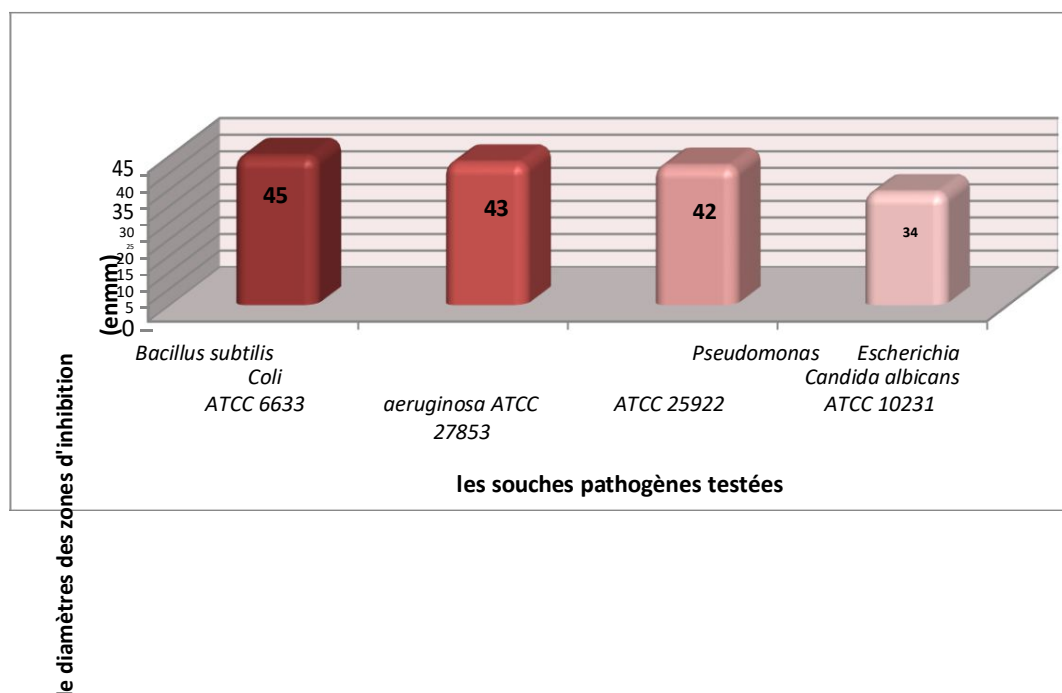


Figure 14 : Diamètre des zones d'inhibition (en mm) en présence d'extrait brut (*Annona cherimola*) vis-à-vis, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Candida albicans* ATCC 10231. Les valeurs représentent la moyenne de 4 déterminations.

Aucune activité antimicrobienne n'a été enregistrée pour les souches *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 (Figure 15;16).

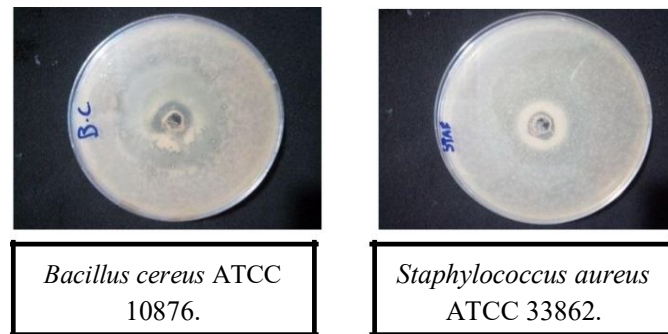


Figure 15 : Pouvoir antimicrobien d'extrait brut d'*Annona cherimola* par la méthode de diffusion en puits vis-vis de *Bacillus cereus* ATCC 10876, et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

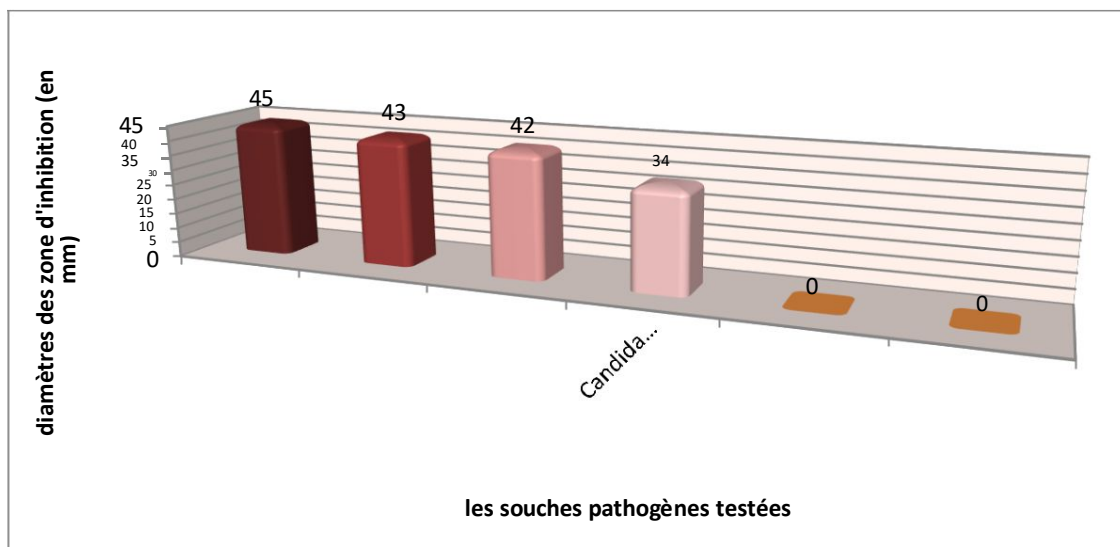


Figure 16 : Pouvoir antimicrobiennes d'extrait d'*Annona cherimola* (diamètre d'inhibition) vis-à-vis des souches pathogènes : *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 10231, *Bacillus cereus* ATCC 10876, et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862. Les valeurs représentent la moyenne (mm) de 6 déterminations.

Nous remarquons que le diamètre d'inhibition supérieur (45.00 ± 1.00 mm) a été observé pour la souche *Bacillus subtilis* ATCC 6633, tandis que le diamètre d'inhibition inférieur (plus faible) (00.00 ± 00 mm) était observé pour la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

Parmi les souches pathogènes testés nous remarquons que les bactéries de Gram+ sont plus résistants au l'extrait de l'*Annona cherimola* par rapport aux bactéries de Gram-. Pour les bactéries de Gram+, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 est la moins résistante avec un diamètre d'inhibition supérieure à $45.00 \pm$

00 mm on comparaison avec *Bacillus cereus* ATCC10876 et *Staphylococcus aureus* ATCC 338625 qui sont de diamètre de 00 ± 00 mm (Figure 17).

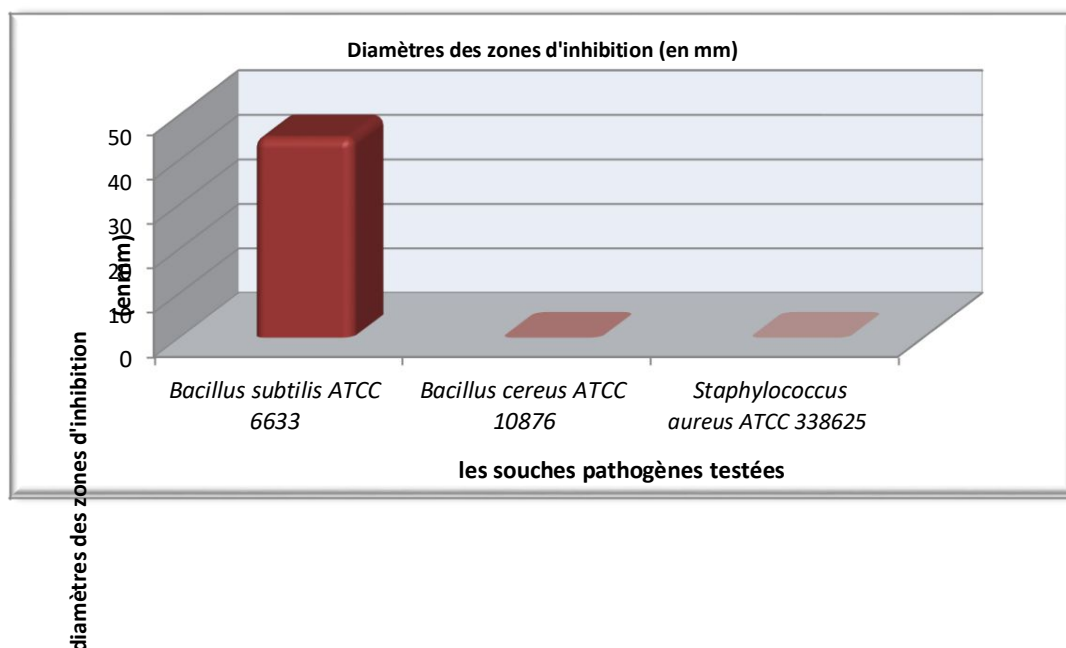


Figure 17 : Pouvoir antimicrobiennes d'extrait d'*Annona cherimola* (diamètre d'inhibition) vis-à-vis des souches pathogènes *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 10876, et *Staphylococcus aureus* ATCC 338625 (les bactéries de Gram+). Les valeurs représentent la moyenne (mm) de 3 déterminations.

Pour les bactéries de Gram- on constate qu'ils sont les moins résistants parmi les souches testé avec un diamètre d'inhibition de 43 ± 00.00 mm pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et 42 ± 00.00 mm pour la souche *Escherichia coli* ATCC 25922 (Figure 18).

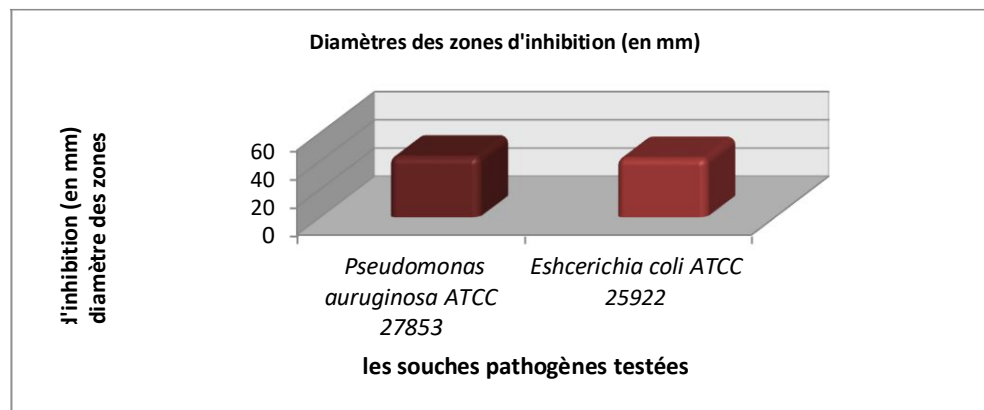


Figure 18 : Pouvoir antimicrobienne d'extrait d' *Annona cherimola* (diamètre d'inhibition) vis-à-vis des souches pathogènes : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Escherichia coli*

ATCC 25922 (les bactéries de Gram-). Les valeurs représentent les moyennes (mm) de 2 déterminations.

La levure *Candida albicans* ATCC 10231 est légèrement plus résistante par rapport aux bactéries à Gram+ et moins résistante par rapport aux bactéries de Gram- avec un diamètre d'inhibition de 34± 00.00 mm.

Dans l'ensemble des résultats obtenus, il ressort que : *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Candida albicans* ATCC 10231 sont les plus sensible *vis-à-vis* l'extrait d'*Annona cherimola* (activité antibactérienne forte).

Quant aux deux bactéries indicatrices *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, elles se sont révélées résistantes *vis-à-vis* de l'extrait d'*Annona cherimola*.

L'activité antimicrobienne de l'extrait de l'*Annona cherimola* a été testée *vis-à-vis* des bactéries pathogènes, cette étude a révélé la présence de nombreux métabolites secondaires dans les feuilles d'*Annona cherimola*. Il a en outre confirmé que les extraits de plantes pouvaient être utilisés pour le traitement de diverses infections, y compris les infections transmises par la peau. Les résultats prêtent foi à l'utilisation folklorique, si cette plante dans le traitement des infections microbiennes et montre que l'*Annona cherimola* pourrait être exploitée pour de nouveaux agents antimicrobiens puissants ([Kedernathet al., 2013](#)).

L'extrait de fruit *Annona cherimola* a un effet contraire sur la croissance de différents agents pathogène bactériens ([Begumet al.,2016](#)).

Dans notre étude l'extrait d'*Annona cherimola* a marqué un fort effet inhibiteur *vis-à-vis des* souches *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, et *Candida albicans* ATCC 10231.

Aucun effet n'a été enregistré *vis-à-vis* des souches *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

Nos résultats sont comparatifs avec les résultats d'autres travaux, en effet, [Antonisamyet al. \(2012\)](#) dans leur étude sur l'extrait d'*Annona cherimola* ont observé une activité *vis-à-vis* de certaines bactéries testées. La zone maximale d'inhibition a été observée *vis-à-vis Escherichia coli* (13 mm) et *Staphylococcus aureus* (10 mm).

[Kedarnathet al. \(2013\)](#) dans une étude sur *Aspergillus niger* ont noté un diamètre de l'ordre de (17 mm) exercé par l'extrait d'*Annona cherimola*.

Alamdar et Agoaglu (2009), a étudié l'effet antibactérien obtenu à partir de feuille pressées à froid d'*Annona cherimola*. Ces résultats sont en accord avec les nôtres du fait qu'ils ont conclu l'absence d'effet inhibiteur de jus d'*Annona cherimola* vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et de *Bacillus cereus* ATCC 10876.

Bukhariset al. (2017) ont testé l'activité antimicrobienne du gel d'*Annona cherimola*. Ils ont noté une zone d'inhibition de l'ordre de 8 mm avec la souche *Staphylococcus aureus*, alors que nous n'avons détecté aucune activité de la part de notre extrait testée sur cette même espèce.

Lawrence et al. (2009) ont testé l'activité antimicrobienne de l'extrait d'*Annona cherimola*. Ils ont observé un effet inhibiteur maximal de l'extrait vis-à-vis de *Bacillus cereus* et qui est de l'ordre de 45.00 mm, par contre ils ont enregistré un effet inhibiteur plus faible avec la souche *Candida albicans* ATCC 10231 et qui est de l'ordre de 34 mm.

IV.2. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La CMI pour une souche pathogène donnée, représente la plus faible concentration d'extrait brut d'*Annona cherimola* qui inhibe toute croissance visible après 24h d'incubation. La CMI permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes vis-à-vis d'un inhibiteur donné (Kablan, 2008).

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI en mg/ml d'extrait brut d'*Annona cherimola*) des différentes souches pathogènes testées dans ce travail sont respectivement variables, selon la souche, de 12.5 mg/μl à 25 mg/μl.

Le classement des souches selon un ordre décroissant de leur sensibilité (exprimée par la moyenne de la CMI) vis-à-vis d'extrait d'*Annona cherimola* (Figure19).

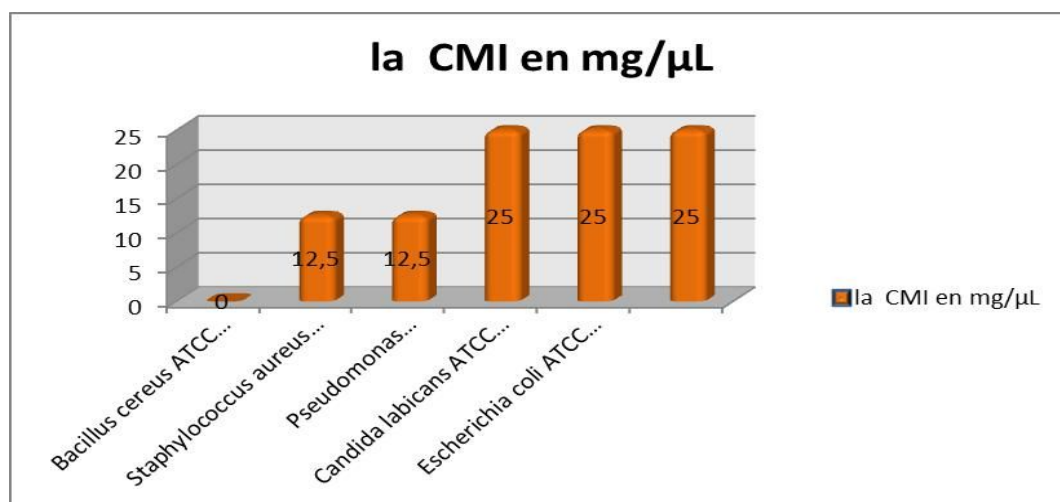


Figure 19 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque souche testée. Nous remarquons que la CMI la plus faible obtenu par extrait d'*Annona cherimola* est égale 12.5 mg/µl vis-à-vis des souches *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

Et les autres CMI sont compris par ordre décroissant entre 25 et 12.5 mg/µl respectivement vis-à-vis des souches : *Bacillus subtilis* ATCC 6633 *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 10231, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

La CMI la plus élevée a été obtenue avec *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 ainsi que *Candida albicans* ATCC 10231 et qui est de l'ordre de 25 mg/µl.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales possèdent, des propriétés biologiques très importantes dans divers domaines à savoir médical, pharmaceutique, cosmétique et d'agriculture.

Face à ces nombreux obstacles que présente l'utilisation des antibiotiques disponibles vis-à-vis des maladies infectieuses et parasitaires qui constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité, il est indispensable de rechercher de nouvelles substances antibactériennes efficaces et qui sont à large spectre d'action.

Une des stratégies pour cette recherche consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle.

Le principal objectif de ce travail est de déterminer l'activité antimicrobienne sur six souches pathogènes (Gram + et Gram -) par méthode de diffusion en puits AWDT et la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Sur le plan du niveau des sensibilités des souches, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (diamètre de la zone d'inhibition = 45.00 ± 1.00 mm) s'est révélé la plus sensible vis-à-vis de l'extrait brut d'*Annona cherimola* suivi par *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922. Et la souche *Candida albicans* ATCC 10231 est révélée moins sensible.

Les organismes tests : *Bacillus cereus* ATCC 10876, et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 se sont révélés résistants vis-à-vis de l'extrait d'*Annona cherimola*.

Le classement des souches selon un ordre décroissant de leur sensibilité (exprimée par la CMI) vis-à-vis d'extrait, est respectivement comme suite : *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (25 mg/μl), *Escherichia coli* ATCC 25922 (25 mg/μl), *Candida albicans* ATCC 10231 (25 mg/μl), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (12.5 mg/μl) et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 (12.5 mg/μl).

Par ailleurs *Bacillus cereus* est montrée résistante vis-à-vis de l'extrait d'*Annona cherimola* étudié.

On conclut que l'extrait d'*Annona cherimola* étudié représente en effet inhibiteur intéressant contre les souches indicatrices testées.

En perspective nous proposons de fabriquer des produits alimentaires à base d'*Annona cherimola*, en même temps il faut étudier d'autres propriétés thérapeutiques de cette plante à savoir : antidiabétique, anti-inflammatoire, anti-tumorales, ...etc.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

-A-

Alan R, Ezekowitz B, Hill M, Gordon S (1986). Interferon alpha/beta selectively antagonises down-regulation of mannosyl-fucosylreceptors on activated macrophages by interferon gamma.

Alemdar S, Agaoglu S (2009). Investigation of in vitro antimicrobial activity of Aloe vera juice.

Annok, Banga B. N'guessan, Adou F, Jean David, Allico Joseph Djaman (2012). « Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne ».

Antonisamy JM, Beulah N, Laju RS, Anupriya G (2012). Antibacterial and antifungal activity of Annona cherimola extract.

Arnesen (2008). Determination of total phenolics and anthocyanin contents in the pericarp of hot chillipepper.

Arun Jyothi B, Venkatesh K, Chakrapani P and A RojaRani(2011). Phytochemical and Pharmacological potential of Annona cherimola-A Review.

Asghari, Ahmadvand, (2018). Valorisation d'une huile végétale tropicale: l'huile de pourghère. *Mémoire de magister, université de sherbrooke, Canada, Génie chimique (1996).*

-B-

Barefoot SF, Klaenhammer TR (1983). Determination and activity of lactacin B, bacteriocin Produced by lactobacillus acidophilus.

Begum Halima, Sadia Choudhury Shimmi, Mahfuza, Mazed, Rowshan, Sayeda, Khanom (2016). Effect of Ethanolic extract of Annona cherimola on certain common clinical pathogens,

Beneiet and Colagreco (1994). Component and Application Annona cherimola in medicine.

Berrada (2009). In vitro antimicrobial activity of Annona cherimola on selected urinary pathogens. *University of Health Sciences, Lahore- Pakistan. Biomedica. 33 (1): 40-41.*

Bories, Benseghier. K, Khamed. O (1991). « Huiles Alimentaire de graines Pinus pinea Extraction et Caractérisation physique-chimique ». *Thèse de Doctorat, Université KasdiMerbah, Ouargla, (2014).*

Boudreau M, Beland F (2006). An evaluation of the biological and toxicological properties of *Aloe barbadensis* (Miller).

Broadasky, Perrin C, Austin S, Vera F (1976). Quality and authenticity of commercial *Annona cherimola*.

Bukharis, Colagreco J, Magee B, Magee P (2017). Fungal infections associated with malignancies, treatments, and AIDS.

Boyer (2009). Bio-autographic thinlayer chromatographic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal.

-C-

Chu W, Magee B, Magee P (1993). Construction of an *Sfi*I macrorestriction map of the *Candida albicans* genome.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2008). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.

-D-

Doumandji A, Hellal A, Saidi N (2010). Purification de la bactériocine à partir de *Lactobacillus acidophilus*.

-G-

Garcia, Volovsek M, Arrington J, Schonian G, Presber W, Mitchell T, Vilgalys R (2015). Molecular markers reveal that population structure of the human pathogen *Candida albicans* exhibits both clonality and recombination.

Graser (1996). *Microbiologie Alimentaire.*

Guiraud, (1998). L' *Annona cherimola*, une plante médicinale à vertus hydratantes et cicatrisantes.

-H-

Hwanhlem N, Buradaleng S, Wattanahant S, benjakul S, Tani A, Maneerat S (2011). Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (pla som) and production of plasm from selected strains.

-J-

Jenuwein (1988). Études d'Annonaceae: Mécanisme de l'effet cathartique.

-K-

Kablan B, Adiko M, Abrogoua D (2008). Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de Kalanchoe secinata et de Manoteslongiflora utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire.

Kaper JB, Nataro JP, Mobley H (2004). Pathogenic Escherichia coli.

Kedernath, Mensor, Fabio S. Menezes, Gilda G. Leitao, Alexandre S. Reis, Tereza C. dos Santos, Cintia S. Coube and Suzana G. Leita (2013). « Screening of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant Activity by the Use of DPPH Free Radical Method ».

Kishor G, Pande S, Podile A (2005). Biological control of late leaf spot of Peanut (Arachis hypogaea) with chitinolytic bacteria.

Koumé A, Djéni T, N'guessan F (2013). Postprocessing microflora of commercial attiéke (afermented cassava product) produced in the south of Côte d'Ivoire.

-L-

Labayle D (2001). Guide Pharmacologie.

Lacombe (2017). Analyse des corps gras. Techniques de l'ingénieur.

Lagane Céline (2007). immunopathologie, Oncogenèse et signalisation cellulaire. Thèse de doctorat. *Université Toulouse.*

Lawrence et al. (2009). Etude de la spore de Bacillus subtilis : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance. *Biotechnologies, Université de Bourgogne Français.*

Le Lay Julien (2014). Compréhension des mécanismes impliqués dans l'activité réductrice et dans les adaptations métaboliques à pH acide de Bacillus cereus : implication des thiols exofaciaux. Thèse de doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.

Liu PV (1974). Extracellulartoxins of Pseudomonas aeruginosa.

Loison (2013). Nouveau procédé de fractionnement de la graine de Neem Sénégalais. Thèse de Doctorat, *Université de Toulouse,*

Lues J, Thezon M, Venter P, Rasephei M (2007). Microbial composition in bioaerosols of a high-throughput chicken-slaughtering facility.

-M-

Monica R. Loizzo, Rosa T, Marco B, Federica M, Vincenzo M, Luigi A, Francesco M (2012). Radical scavenging, antioxidant and metalchelating activities of *Annona cherimola* Mill. (cherimoya) peel and pulp in relation to their total phenolic and total flavonoid contents.

Mehta (2017). Contribution à l'étude de l'analyse de l'huile de *Citrullus colocynthis* (Coloquinte) et de son pouvoir antimicrobien. *Mémoire de magister, université Abu-bakr Belkaid, Tlemcen, Substances Naturelles, Activité Biologique et Synthèse (2011).*

Michayewi (2013). The safety of herbal medicine use during pregnancy.

Monica, Kabilar P, Velmurugan S, Kumar R, Gayathiri M (2012). Spectroscopy studies on the status of aloin in *Aloevera* and commercial samples.

Mothana R and Linclequist V (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plants of the islands of qotra.

-N-

Nauciel Charles et Louis Vildé Jean (2005). *Livre de Bactériologie médicale Staphylococcus aureus. p: 77-141.*

Nwaoguikpe, Batt C, Patel P (2010). *Encyclopedia of food microbiology.*

-O-

Odds F (2010). Molecular phylogenetics and epidemiology of *Candida albicans*.

-P-

Park, Ana M, Aranzazu M, Antonio S, Alberto F (2011). Identification and quantification of phenolic and other polar compounds in the edible part of *Annona cherimola*.

Pfaller M and Diekema D (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem.

Pijpers, Paris R (1985). Les plantes médicinales.

-R-

Ryan K (2004). Candida, Aspergillus and other opportunistic fungi.

-S-

Sampath K, Bhowmik D, Chiranjib, Biswajit (2010). A potential herb and its medicinal importance.

Schell W (2006). Mycotic agents of human disease.

Seve, (2012). From soil to gut: Bacillus cereus and its food poisoning toxins.

Stover GB, Drake D, Montie T (1983). Virulence of different Pseudomonas species in a burned mouse model : tissue colonization by Pseudomonas cepacia.

-T-

Touitou (2005). Contribution à l'étude de la qualité des corps gras alimentaire commercialisés au Sénégal. *Thèses de doctorat en pharmacie (1998).*

-V-

Verweij PE, Brandt ME (2007). Aspergillus, Fusarium and other opportunistic moniliaceous fungi.

-W-

Willox (2007). Pseudomonas aeruginosa infection and inflammation during contact lens wear. Optometry and Vision Science.

-X-

Xavier SCHELDEMAN (2002), thèse de Doctorat. *Université de GENT, Belgiq.*

Résumé

L'objectif de ce présent travail est d'étudier le pouvoir antimicrobien de l'extrait à partir des fruits d'*Annona cherimola* provenant de France vis à vis de 06 microorganismes testés : *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

Les résultats sont exprimés par le diamètre des zones d'inhibition par méthode de diffusion en puits AWDT et la détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI). Les résultats du test d'AWDT ont révélé les diamètres suivants par ordre décroissant, avec *Escherichia coli* ATCC 25922 (42.00±00.00 mm), *Candida albicans* ATCC 10231 (34±00.00 mm).

Aucune activité antimicrobienne n'a été noté vis-à-vis des souches *Bacillus cereus* ATCC 10876, et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) la plus élevée était enregistrée avec *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (45±00.00) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (43±00.00).

Ces résultats suggèrent l'éventualité de l'utilisation de l'extrait d'*Annona cherimola* comme traitement vis-à-vis de certaines infections d'origine bactérienne voir même certaines mycoses.

Mots clés : *Annona cherimola* – antagonisme – pathogènes – inhibition – *Candidat albicans*.

Abstract

The objective of this work is to study the antimicrobial power of the fruit extract of *Annona cherimola* from France against 06 microorganisms tested: *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

The results are expressed as the diameter of the inhibition zones by AWDT well diffusion test and the minimum inhibitory concentration (MIC) determination. The results of the AWDT test revealed the following diameters in decreasing order, with *Escherichia coli* ATCC 25922 (42.00 ± 00.00 mm) and *Candida albicans* ATCC 10231 (34 ± 00.00 mm).

No antimicrobial activity was noted with *Bacillus cereus* strains ATCC 10876, and *Staphylococcus aureus* ATCC 33862. The highest minimum inhibitory concentration (MIC) was recorded with *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (45 ± 00.00) and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (43 ± 00.00). These results suggest the possibility of using *Annona cherimola* extract as a treatment against certain bacterial infections or even certain mycosis.

Key words : *Annona cherimola* – antagonism – pathogenic bacteria – *Candida albicans*– inhibition.

