

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHESCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955 - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT- 1955



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option: Microbiologie appliquée

Intitulé

Evaluation de l'activité antibactérienne d'extraits de *Salvia officinalis* vis-à-vis de souches cliniques isolées à partir du pied diabétique

Présenté Par :

Bouchareb Yassamine – Boussekine Ikram – Bourema Wissam – Boulifa Khouloud

Membre de Jury

Dr.Gueddah Doria

Présidente

Université du 20 Août 1955 – Skikda

Dr.Becheker Imène

Encadrante

Université du 20 Août 1955 – Skikda

Dr.Labid Asma

Examinatrice

Université du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2021/2022

Remerciements

Nous remercions en premier lieu Allah le tout puissant, qui nous a donné le courage et la volonté pour la réalisation de ce travail.

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer, particulièrement nos remerciements et notre profonde gratitude à Dr. BECHEKER Imène, notre encadrante, d'avoir accepté

de nous avoir encadrer et nous avoir suivi tout au long de la réalisation de ce travail. Nous la remercions également pour sa confiance, sa grande disponibilité et ses efforts.

Nous tenons à remercier Dr. GUEDDAH Doria d'avoir accepté de présider notre jury.

Un grand merci à Dr. Labid Asma d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nous remercions vivement le personnel du Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de SKIKDA pour leur patience et leur précieuse aide pendant l'élaboration de ce travail, en particulier, Mr ZAID Nacer, diététicien de la santé, sans oublier Mme KABOUYA Samira.

Nous remercions s'adressent également à tous ceux et celles qui, de près ou de loin, se sont associés pour l'élaboration de ce travail, merci du fond du cœur.



A toi papa je dédie ce travail. Toi qui m'a toujours soutenue et cru en moi , en mes compétences et en mes capacités. Toi qui a toujours été présent pendant ma détresse et mes peine. Toi qui a toujours su dire les phrases qu'il fallait. Que dieu te garde.

Merci papa.

A toi maman , je dédie aussi ce travail pour te remercier pour tout ce que tu as fait pour moi, pour ton enthousiasme , ton organisation et surtout ta présence pour prendre les décisions qu'il faut.

Merci maman.

A toi ma sœur jumelle Nesrine, ma partenaire , ma confidente, ma deuxième moitié, je dédie ce travail. Toi qui avait des larmes de joie lorsque j'avais comme toi, de bonne notes.

Merci ma jumelle.

A toi grande sœur Nada, merci d'avoir été la pour moi tous les soirs et surtout pendant la période des examens, toi qui avait toujours le sens de l'observation et corrigeait tout le monde.

Merci grande sœur.

A toi grand frère Nadir qui a aussi cru en mes capacités en m'encourageant et s'inquiétant tout le temps pour nous trois, car tu voulais qu'on suive ton chemin et réussisse.

Merci mon frère.

sans oublier sa femme rihab qui m'a toujours encouragée.

Merci belle sœur .

*Je ne dois pas oublier de remercier mon trinôme **Wissam, Ikram ,et Khouloud** avec qui j'ai partagé les meilleurs moments.*

Yassamine



C'est avec grand plaisir que je dédie ce mémoire
A mes très chers parents, source de vie, d'amour et d'affection.
A mes chers frères Mohamed et Hani , et ma chère jumelle Chaima.
A ma chère tante Nassima et à ma chère grand mère Saliha.
A mes chères collègues et trinôme Wissam, Khouloud et Yassamine, à qui je souhaite bonne
chance pour leurs prochains projets.



*Je dédie ce travail, qui n'aurait pu aboutir et voir la lumière sans l'aide de Dieu le tout puissant ;
A mes chers parents, symbole de courage et de volonté, qui ont consacré et sacrifié leur vie pour
mon bien être. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et
d'amour.*

*Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin.
Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont vous avez fait preuve, de l'encouragement et le
soutien que vous ne cessez de manifester, j'espère que vous y trouverez les fruits de votre semence
et le témoignage de ma grande fierté de vous avoir comme parents.*

*J'implore Dieu, tout puissant, de vous accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de
bonheur.*

*A mes chères sœurs : **Imen, Chahrazed et Ibtissam** merci pour leur disponibilité. Vous avez
toujours su être dans les meilleurs moments comme dans les pires que dieu vous garde pour moi.;*

*A mes adorables nièces **Miral et Ania***

*A ma grand-mère, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour bien mener mes
études.*

*A mon cher oncle **Salem** pour ses encouragements.*

*A mon cher cousin **Fethi**, pour son précieux soutien, ses encouragements tout au long de mes
années d'étude.*

*A mes chères collègues, **Khouloud, Ikram et Yassamine** pour tous les moments qu'on a passé
ensemble ; et à tous les membres de la famille qui ont su se montrer disponibles, attentifs et nous
ont donné de précieux conseils tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*A tous les étudiants de ma promotion,
et à tous les êtres chers à mes yeux que je n'ai pas évoqué.*



***A mon cher père Rabah :** Je remercie le Dieu parce que j'ai la chance d'avoir un papa exceptionnel, ce travail est le tien. Rien au monde ne vaut vos efforts fournis, jour et nuit, pour mon*

éducation et mon bien-être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Que Dieu te donne longue de vie, santé et bonheur éternel.

***A ma chère mère Mimi :** Maman comment je pourrais t'exprimer toute ma reconnaissance, ma joie et ma fierté de t'avoir comme mère. Ce mémoire je te la dédie, il est le fruit de ton soutien permanent. Tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Puisse Dieu le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

***A mes frères Lotfi, Bilel et Fouzi,** je vous souhaite le bonheur et la réussite dans le travail et dans la vie.*

***A mes très belles sœurs : Asma, Sara et Hayet** avec qui j'ai partagé de bons moments vous êtes les meilleurs.*

A mon adorable neveu Mohamed Adem,

***A mes très chères nièces, Mayer, Iline, Malek Soujoud, Jouri et Hazar,** vous êtes ma source de réussite qu'Allah vous bénisse Incha Allah.*

***A mes collègues Wissam, Ikram et Yassamine,** merci pour tous les moments qu'on a passé ensemble.*

A tous les étudiants de ma promotion, je vous souhaite à tous une très belle carrière professionnelle et une vie privée pleine de joie, santé et amour.

*Du fond du cœur et de toute âme, **merci à tous***

Khouloud

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction	1
Chapitre1: Le diabète	
1.Définition	3
2. Diagnostic	3
2.1. Glycémie	3
2.2. L'hémoglobine glyquée (hbA1c)	3
3. Classification	3
3.1. Diabète de type 1	4
3.2. Diabète de type 2	4
3.3. Diabète de la grossesse (diabète gestationnel)	4
3.4. Diabète mongénique	4
3.5. Autres types de diabète	5
4. Complications liées au diabète	5
4.1. les complications aiguës	5
4.2. Les complications chroniques	5
5. Le pied diabétique	5
5.1. Les principaux facteurs qui favorisant l'infection du pied diabétique	6
5.2. Symptomatologie de l'affection du pied diabétique	6
5.3.Différents aspects de l'infection du pied diabétique	6
Chapitres II : les bactéries étudiées	
1. <i>Les staphylocoques</i>	8
1.1. Habitat	8
1.2.Pouvoir pathogène	8
2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	8
2.1. Habitat	8
2.2.Pouvoir pathogène	8
3. <i>Escherichia coli</i>	9
3.1. Habitat	9
3.2. Pouvoir pathogène	9

4. <i>Les streptocoques</i>	10
4.1. Habitat	10
4.2. Pouvoir pathogène	10
Chapitre III : La résistance bactérienne aux antibiotiques	
1. Définition de La résistance bactérienne aux antibiotiques	11
2. Les différents types de la résistance bactérienne aux antibiotiques	11
2.1. La résistance bactérienne naturelle	11
2.2. La résistance bactérienne acquise	12
2.2.1. La Résistance acquise par mutation chromosomique	12
2.2.2. La résistance par acquisition des gènes	12
2.2.3. La résistance par inhibition enzymatique	13
2.2.4. La résistance par la réduction de la perméabilité cellulaire	14
2.2.5. La résistance par l'altération (ou modification) des sites de liaison	14
2.2.6. La résistance par les pompes (transporteurs) à efflux	14
3. Mode d'action des antibiotiques	14
Chapitre IV : La plante médicinale testée (<i>Salvia officinalis</i>)	
1. Présentation de la plante étudiée : (<i>Salvia officinalis</i>)	16
2. Classification botanique	16
3. Description botanique	16
4. Localisation géographique	17
5. Usage traditionnel	18
5.1 Usages pharmaceutiques	18
5.2 Usages cosmétologiques	18
5.3 Usages alimentaires	18
6. Composition chimique	18
7. Propriétés thérapeutiques	19
Matériel et méthodes	
1. Matériel	20
1.1. Souches bactériennes	20
1.2. Matériel végétal	20
1.2.1. Critères de choix de la plante	20
1.2.2. Séchage et conservation	20
2. Méthodes	20
2.1. Réalisation des prélèvements	21
2.2. Préparation des extraits	21

2.2.1. Extraction d'huile essentielle	21
2.2.2. Préparation de la macération huileuse	22
2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits préparés	23
2.3.1. Détermination des diamètres des zones d'inhibition	23
2.3.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	24
2.3.3. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)	25
Résultats	
1. Identification des souches bactérienne isolées	26
2. Les caractéristiques organoleptiques de l'extrait du plante testée <i>Salvia officinalis</i>	26
2.1. Les caractéristiques organoleptiques du macérât huileux des feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	26
2.2. Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle des feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	27
3. Evaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits des feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	28
3.1. Détermination des zones d'inhibitions et des CMI des l'extraits huileux de feuilles de <i>Salvia officinalis</i> vis-à-vis des souches cliniques	28
3.2. Détermination des zones d'inhibition et des CMI de l'huile essentielle des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> vis –à vis des souches cliniques .	30
Discussion	32
Conclusion	35
Références bibliographiques	36
Résumés	

Liste des abréviations

MNT : Maladies non-transmissibles

OMS : Organisation Mondiale de la santé

BMR : Bactérie Multi-Résistante

HbA1c : Hémoglobine glyquée

Hplc : Chromatographie liquide haute performance

ADA : American diabète association

DG : Diabète gestationnel

IFD : Fédération internationale du diabète

GPC : Cocci aérobie à gram positif

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

BLP : protéine liant pénicillines

PBP : Péniciline binding protein

UV : Ultra Violet

DO : Densité Optique

MH : Muller Hinton

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CMB : Concentration minimale bactériocide

ZI : Zone inhibitrice

AEM : L'agence européenne des médicaments

CMP : Comité des médicaments à base de plantes

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	La Classification scientifique de <i>Salvia officinalis</i>	16
02	Caractéristiques organoleptiques de l'extrait huileux de <i>S. officinalis</i>	26
03	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i>	27
04	Les diamètres des zones d'inhibition et les valeurs des CMI des souches bactériennes cliniques vis-à-vis de la macération huileuse des feuilles de <i>S. officinalis</i>	28
05	Les diamètres des zones d'inhibition et les valeurs des CMI des souches bactériennes cliniques vis-à-vis du l'huile essentielle des feuilles de <i>S. officinalis</i>	30

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Infection superficielle du pied diabétique	7
02	Infection profonde du pied diabétique	7
03	La résistance aux antibiotiques	11
04	L'origine de la résistance aux antibiotiques	13
05	Modes d'action des antibiotiques	15
06	Aspect de la plante <i>Salvia officinalis</i>	17
07	Les feuilles de <i>salvia officinalis</i>	17
08	Les fleurs de <i>Salvia officinalis</i>	17

09	Les graines de <i>Salvia officinalis</i>	17
10	Feuilles de <i>Salvia officinalis</i> Séchées	20
11	Prélèvement de pus d'une plaie superficielle	21
12	l'huile essentielle de la sauge (<i>Salvia officinalis</i>)	21
13	Macération huileuse de la sauge (<i>Salvia officinalis</i>)	22
14	La série des dilutions des deux extraits	23
15	Détermination des diamètres des zones d'inhibition	24
16	Détermination de la CMI et la CMB	25
17	Identification des souches bactériennes par la Chromagar d'orientation	26
18	Macération huileuse des feuilles de <i>S. officinalis</i>	27
19	L'huile essentielle des feuilles de <i>S. officinalis</i>	27
20	Les diamètres des zones d'inhibition de la souche <i>Streptococcus</i> sp. vis-à-vis de macération huileuse de <i>S. officinalis</i>	29
21	Les diamètres des zones d'inhibition de la souche <i>E.coli</i> vis-à-vis de la macération huileuse de <i>S. officinalis</i>	29
22	Les diamètres des zones d'inhibition de la souche <i>k. pneumoniae</i> 1 vis-à-vis de macération huileuse de <i>S. officinalis</i>	29
23	Les diamètres des zones d'inhibition de la souche <i>E.coli</i> vis-à-vis de l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i>	30
24	Les diamètres des zones d'inhibition de la souche <i>K. pneumoniae</i> 4 vis-à-vis de l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i>	31

Introduction

Le diabète est une maladie chronique se caractérisant par une élévation du taux de glucose dans le sang : c'est un problème mondial de santé publique. c'est l'une des maladies non-transmissibles (MNT) identifiées par l'OMS et classées comme étant une épidémie mondiale (**Gasmi, 2018**). Elle évolue silencieusement et insidieusement jusqu'à l'apparition de certaines complications lourdes qui peuvent entraîner des troubles cardiovasculaires, troubles visuels , insuffisance rénale , ulcération et infection du pied pouvant entraîner l'amputation (**Mansour, 2012 ; El-Allali, 2015**).

En effet, une amputation du membre inférieur est réalisée toutes les 30 secondes chez les patients diabétiques dans le monde, ce qui donne environ 1 million d'amputés par an. Ces conséquences sont souvent dramatiques sur le plan socio-économique et psychologique (**Ait lhaj ou said, 2014**). Le pied diabétique regroupe toute infection, ulcération ou destruction des tissus profonds du pied associées à une neuropathie et/ou un artériopathie périphérique des membres inférieurs chez le diabétique. Souvent, la pauvreté, le manque d'hygiène et la marche à pieds nus interagissent pour aggraver l'impact des lésions du pied causées par le diabète. Elles sont à l'origine de 15 à 25% des hospitalisations en Afrique (**Awalou et al., 2018**).

L'infection du pied diabétique consiste en une invasion des tissus par des bactéries, accompagnée d'une multiplication avec ou sans réponse inflammatoire. Elle peut être superficielle ou plus profonde pouvant engager le pronostic vital et qui nécessite un traitement médicochirurgical d'urgence. L'infection du pied diabétique avec la spécificité de sa localisation (pied fragilisé) et un statut immunitaire générale affaiblie (diabète) qui constitue un motif fréquent de prescription d'antibiotiques. Cette dernière est basée sur les résultats de l'étude microbiologique qui a pour but l'identification de l'agent infectieux responsable et d'étudier sa sensibilité aux antibiotiques afin de conduire l'antibiothérapie. Cette tâche rend le rôle du microbiologiste primordial dans la prise en charge de cette pathologie qui nécessite une collaboration multidisciplinaire (**Badri et Tahri, 2016**).

Après leur découverte, les antibiotiques ont laissé à croire, pendant longtemps, qu'ils étaient le remède de toute maladie infectieuse. Cependant, l'apparition des souches bactériennes résistantes à ces derniers mit fin à cette hypothèse. Et depuis ce temps, on assiste à l'émergence et à l'élargissement du spectre de résistance de toutes les bactéries à Gram positif et négatif en développant plusieurs mécanismes (**Khadir, 2014**). L'accumulation de ces mécanismes des résistances a rendu certaines souches bactériennes résistantes à un certain nombre d'antibiotiques, elles sont dites bactéries multirésistantes (BMR). Elles sont associées à une augmentation de la morbidité et de la mortalité des infections (**Cattoir et al., 2014**). Et par conséquent on assiste à l'ère

de la réduction voir la raréfaction des antibiotiques actifs et on a tendance à chercher dans la nature de nouvelles molécules bioactives susceptible de les remplacer.

Dans cette optique nous avons choisi de tester l'huile essentielle ainsi que l'extrait huileux de la plante médicinale *Salvia officinalis* sur des souches cliniques isolées à partir de prélèvements de pus du pied diabétique effectués chez des patients hospitalisés au niveau de l'hôpital Ibn Rochd-Souk Ahras.

Les objectifs de notre travail sont :

- Isolement et identification des bactéries responsables de l'infection du pied diabétique.
- Evaluation de l'activité antibactérienne de différents extrait d'une plante à intérêt médicinal vis-à-vis de ces dernières en déterminant les diamètres des zones d'inhibition, CMI et CMB..

Chapitre I

Le Diabète

1. Définition :

Le diabète sucré est une affection chronique due soit à une insuffisance génétique ou acquise de la production d'insuline par le pancréas, soit au fait que cette insuline n'est pas assez active. Cette insuffisance provoque une augmentation de la glycémie (concentration de glucose dans le sang) qui conduit à son tour à des lésions affectant plusieurs appareils ou systèmes, en particulier les vaisseaux et les nerfs (OMS, 2019).

2. Diagnostic :

2.1. Glycémie : Le diagnostic du diabète repose sur la mesure de la glycémie (taux de sucre dans le sang), pour cela trois méthodes sont possibles :

- Symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement inexplicable, somnolence voire coma) et glycémie quelle que soit l'heure $\geq 2,00$ g/L (11,1 mmol/L).
- Glycémie à jeun $\geq 1,26$ g/L (7,00 mmol/L) à deux reprises.
- glycémie 2h après une charge de 75 g de glucose lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale $\geq 2,00$ g/L (11,1 mmol/L) (Drouin et al., 1999).

2.2. L'hémoglobine glyquée (HbA1c) :

Le dosage de l'hémoglobine glyquée permet d'obtenir une estimation de la glycémie moyenne au cours des deux à trois derniers mois de suivi d'un patient. Sa valeur est généralement exprimée en pourcentage et permet la surveillance de l'équilibre glycémique des patients diabétiques. Il s'agit principalement d'un élément de suivi de l'équilibre glycémique, mais un niveau supérieur ou égal à 6,5% d'HbA1c, déterminé par HPLC, à deux reprises, a récemment été intégré aux critères diagnostiques du diabète par l'ADA (American Diabetes Association) (Alexis, 2014).

3. Classification :

La nouvelle classification proposée repose sur l'étiologie de la maladie et non sur le degré d'hyperglycémie ou son traitement. cette classification étiologique comporte de nombreux types de diabète, dont les plus fréquents sont le diabète de type 1 et le diabète de type 2.

3.1. Diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 est défini par la destruction des cellules β des îlots de Langerhans conduisant habituellement à une carence complète en insuline. Il est subdivisé en type 1 auto-immun (environ 90% des cas) et type 1 idiopathique. **(Chevenne et Porquet, 2003).**

Les symptômes sont les suivants : excrétion excessive d'urine (polyurie), sensation de soif (polydipsie), faim constante, perte de poids, altération de la vision et fatigue. Ces symptômes peuvent apparaître brutalement **(OMS, 2019).**

3.2. Diabète de type 2 :

Le diabète de type 2 (nommé autrefois non insulino-dépendant) est défini par l'hyperglycémie chronique et par la présence d'un défaut d'action de l'insuline (insulinorésistance) et d'un défaut de sécrétion de l'insuline. Le diabète de type 2 comprend des formes qui vont d'une insulinorésistance prédominante associée à une carence relative en insuline jusqu'à une insulinopénie prédominante associée à une insulinorésistance modérée **(Chevenne et Porquet, 2003).**

3.3. Diabète de la grossesse (diabète gestationnel):

Est défini par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme une anomalie de l'homéostasie glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable, débutant ou diagnostiquée pour la première fois pendant la grossesse et ceci, quels que soient le traitement nécessaire et l'évolution après l'accouchement. Cette définition recouvre donc des situations très différentes puisqu'il peut s'agir soit d'un diabète gestationnel «vrai», qui disparaîtra (au moins temporairement) en postpartum, soit d'un diabète non gestationnel, débutant pendant la grossesse ou préexistant à la grossesse mais méconnu **(Vanderijst et al., 2012).**

3.4. Diabète monogénique :

Les formes monogéniques de diabète représentent environ 10% des cas de diabètes dits « non insulino-dépendants ». La transmission est de type mendélien et le diabète débute souvent très précocement. Les gènes mis en cause codent des protéines qui jouent un rôle clé dans l'homéostasie glucidique. Parmi les formes monogéniques les plus rares, sont retrouvées des mutations des gènes de l'insuline ou son récepteur. Il a été ainsi décrit des défauts de clivage entre l'insuline et le peptide C, ainsi que des syndromes de résistance périphérique extrême avec hyperinsulinémie constante **(Chevenne et Porquet, 2003).**

3.5. Autres types de diabète :

Ils sont secondaires à une autre maladie : maladies pancréatiques (pancréatites Chroniques, carcinomes...), endocrinopathie (hyperthyroïdie, syndrome de Cushing, hyperaldostéronisme primaire, phéochromocytome...), ou peuvent être secondaires à la prise de médicaments : thiazidiques, antihypertenseurs, pilules contraceptives, corticoïdes... (**Lecaque, 2011**).

4. Les complications liées au diabète :

Les personnes atteintes du diabète sont exposées au risque de développer divers problèmes de santé potentiellement mortels.

On distingue deux grands types : les complications aiguës et les complications chroniques :

4.1. Les complications aiguës :

Les complications aiguës associées au diabète de type 2, tout comme les complications chroniques, peuvent avoir des conséquences graves, voire mortelles pour les diabétiques. Elles se manifestent lorsque le diabète est mal contrôlé et se caractérisent principalement par des états d'hypoglycémie et d'hyperglycémie. La reconnaissance de signes et symptômes des complications aiguës est un élément crucial de l'autogestion (**Canadian diabetes association, 2013**).

4.2. Les complications chroniques :

Les complications à long terme du diabète sont classiquement divisées en deux catégories :

Complications microangiopathiques (rétinopathie, néphropathie, neuropathie) et le cas particulier du pied diabétique (**Messaoudi, 2011 ; Georges, 2011 ; Lecaque, 2011 ; Yan et Francine, 2015**).

5. Le pied diabétique :

Le pied diabétique est un « pied à risque » car il présente des plaies fréquentes et chroniques chez des patients atteints d'une pathologie chronique, multi-traités et hospitalisés et donc à risque de contamination, colonisation et infection (**Lachgard, 2016**). Le terme pied diabétique désigne les lésions du pied observées chez le patient diabétique, qu'il soit traité par antidiabétique oraux ou par insuline (**Ragalon et Vanwujick, 2005**). Le pied diabétique se manifeste à la suite d'une hyperglycémie chronique qui peut affecté non seulement le système nerveux périphérique, mais également les systèmes vasculaires et locomoteurs. Le retard dans la cicatrisation des plaies expose le pied diabétique à l'infection, augmentant ainsi les risques d'amputation (**Denise, 2002**).

3 mécanismes diversement associés peuvent être impliqués dans l'apparition du pied diabétique (**Naouli, 2018**) : la neuropathie, l'ischémie et l'infection.

5.1. Les principaux facteurs qui favorisant l'infection du pied diabétique :

Les facteurs déclenchant une infection du pied diabétique les plus fréquents sont (**Jacques et al., 2015**) :

- Des chaussures inadaptées aux déformations du pied.
- Une hyperpression répétitive lors de la marche.
- Des ongles blessants.
- La présence de corps étrangers dans la chaussure, des soins inadaptés.
- La marche à pieds nus.

5.2. Symptômatologie de l'affection du pied diabétique :

Repose sur l'observation clinique et en particulier sur la présence d'au moins deux des signes suivants (**Lipsky et al., 2004 ; Andrew, 2005**) :

- Sensibilité local ou douleur.
- Augmentation du volume du pied.
- Induration.
- Érythème perilésionnel.
- Chaleur locale.
- Présence de pus.
- Une atteinte vasculaire qui est très courante chez ces personnes et qui apparaissent parallèlement à la neuropathie
- Des ulcères.
- L'accumulation de plusieurs facteurs de risque (Neuropathies, vascularites).

5.3. Différents aspects de l'infection du pied diabétique :

Les infections sont classées en légères (superficielles et limitées en taille et en profondeur) (**Figure 1**), modérées (plus profondes ou plus étendue) ou sévère (accompagnée de signes systémiques ou de perturbations métaboliques) (**Figure 2**). Cette classification avec une évaluation vasculaire, aide à déterminer quels patients doivent être hospitalisés, ce qui peut nécessiter des procédures d'imagerie ou des interventions chirurgicales spéciales, et qui nécessiteront une amputation. La plupart des IFD sont polymicrobiennes, avec des cocci aérobies à Gram positif (GPC), et en particulier des

staphylocoques, les plus courants organismes responsables. Les bacilles aérobies à Gram négatif sont fréquemment pathogènes dans les infections chroniques (**Lipskey et al., 2012**).



Figure 1: Infection superficielle du pied diabétique (**Prise personnelle**).



Figure 2: Infection profonde du pied diabétique (**Prise personnelle**).

Chapitre II
Les bactéries étudiées

Dans ce chapitre, on a défini les différentes espèces bactériennes isolées et identifiées lors de la réalisation de ce travail.

Les 4 espèces isolées sont :

1. *Staphylococcus aureus* :

1.1. Habitat :

Les staphylocoques sont des bactéries de type cocci à Gram positif, qui sont portés fréquemment par les personnes en bonne santé, habituellement dans la muqueuse du nez. La bactérie peut ensuite coloniser d'autres régions, via les mains, en particulier les parties humides du corps comme les aisselles ou la zone génitale (**Bergeron, 2013**).

1.2. Pouvoir pathogène :

Les infections à *S. aureus* sont très fréquentes et apparaissent sous des aspects cliniques très variés. *S. aureus* peut être à l'origine d'infections cutanées superficielles ou profondes. L'infection superficielle se traduit par un impétigo, un onyxis ou une folliculite. L'infection profonde est représentée par des abcès intra-folliculaires de toute la gaine du poil appelés furoncles. Ces récurrences sont parfois liées à des facteurs déclenchants : diabète, surmenage, etc. ... (**Elazhari et al., 2009**).

2. *Klebsiella pneumoniae* :

2.1. Habitat :

Les klebsielles sont immobiles, généralement capsulées, très fréquentes dans la nature, commensales de l'homme, responsables d'infections opportunistes hospitalières chez des malades fragilisés (**Camille, 2014**).

2.2. Pouvoir pathogène :

Certaines souches de *K. pneumoniae* agissent comme des pathogènes opportunistes, infectant les patients gravement malades et immunodéprimés. Ces *K. pneumoniae* sont une cause fréquente d'infections associées aux soins de santé, notamment la pneumonie, les infections des voies urinaires et les infections de la circulation sanguine. (**Martin et Bachman, 2018**). *K. pneumoniae* est responsable d'infections broncho-pulmonaires incluant les pneumonies lobaires nécrosantes, les abcès pulmonaires, les pleurésies purulentes (**Carpenter, 1990**). Cette espèce est également responsable d'infections intra-abdominales et est isolée du mal perforant plantaire. Elle est surtout

un agent d'infections nosocomiales (**Podschun et Ullmann, 1998**), responsable d'infections urinaires, de bactériémies, de pneumonies, d'infections de sites opératoires et d'infections néonatales (**Stone et al., 2003 ; Sahly et al., 2004**).

3. *Escherichia coli* :

3.1. Habitat :

Les entérobactéries sont présentes dans de nombreux écosystèmes, en particulier l'intestin qui leur a donné son nom mais aussi dans l'environnement (eau, sol...). Elles peuvent être saprophytes, commensales ou pathogènes. Le cas d'*E. coli* est typique puisque cette bactérie est retrouvée dans les eaux souvent en provenance d'une contamination fécale et dans l'intestin (**Greathorex et Thorne, 1994**). Cependant, bien que la majorité des souches d'*E. coli* soient commensales, certaines d'entre elles sont associées à des pathologies intestinales (**Levine, 1987**) ou extra-intestinales très diverses chez l'homme (**Pohl et al., 1989**). Comme la plupart des pathogènes des muqueuses, les souches d'*E. coli* pathogènes utilisent une stratégie d'infection dont les points clés sont la colonisation, l'invasion des cellules, la multiplication, le contournement des défenses de l'hôte et la provocation d'endommagement à l'hôte. La détermination des combinaisons de propriétés particulières associées à la virulence d'une souche, les modes d'infection et les signes cliniques de l'infection, constitue un moyen de typage d'*E. coli*, que l'on désigne sous le néologisme de pathotype ou pathovar (**Montet, 2009**).

3.2. Pouvoir pathogène :

E. coli peut devenir pathogène lors de l'affaiblissement des défenses de l'hôte et/ou suite à l'acquisition d'attribut de virulence. Les souches d'*E. coli* pathogènes sont responsables d'atteintes et d'infections intestinales ou extra-intestinales et sont classées en pathotypes selon les manifestations cliniques engendrées, les facteurs de virulence hébergés et les interactions cellulaires. Il existe deux catégories de pathovars, en se basant sur leur pathogénicité : les *E. coli* à l'origine de pathologies extra-intestinales et les *E. coli* à l'origine de pathologies intestinales (**Munjaj Surendra et Sharm, 2012**).

4. Les Streptocoques :**4.1. Habitat :**

Appartiennent à la famille des *Streptococcaceae*, cocci à Gram positif, avec une forme de cellules ovoïdes. Elles sont catalase et oxydase négative mais aussi des anaérobies aérotolérantes. Ces bactéries sont impliquées en pathologie humaine. Elles sont retrouvées partout dans l'environnement, dans les téguments, les muqueuses de l'homme et des animaux. Les streptocoques ont une température optimale de croissance qui varie entre 35C° et 37C°. Leur croissance est favorisée par une atmosphère riche en CO₂ et se développe sur des milieux riches type gélose Columbia additionné de sang (**Denis et al., 2011**).

4.2. Pouvoir pathogène :

Les streptocoques peuvent être responsables d'infections de gravités variables. Elles sont des hôtes inconstants du rhino-pharynx des individus en bonne santé. Peuvent causer des infections aiguës des muqueuses (angines érythémateuses, rhinites, sinusites, otites) et de la peau (érysipèle, impétigo, pyodermite), des complications non suppurées (rhumatisme articulaire glomérulonéphrite aiguë) (**Leclerc et al., 1995**). Les streptocoques provoquent des méningites et des pneumonie chez les nouveaux nés. Chez les bovins, ils sont l'agent causale de la mammite (**Leclerc et al., 1995**).

Chapitre III

La résistance bactérienne aux antibiotiques

1. Définition de la résistance bactérienne aux antibiotiques :

Le phénomène de l'antibiorésistance a été caractérisé aussi bien par les cliniciens que par les bactériologistes et les généticiens. Il n'existe donc pas une, mais plusieurs définitions de la résistance. Dès 1961, un comité d'experts réunis par l'OMS avait donné 2 définitions de la résistance bactérienne (Chabbert, 1982) :

- Un germe est dit résistant quand la concentration d'antibiotique qu'il est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre *in vivo* (Chabbert, 1982).
- Une souche microbienne ou une bactérie est aussi dite résistante quand elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce ou des individus de la même culture (Chabbert, 1982).

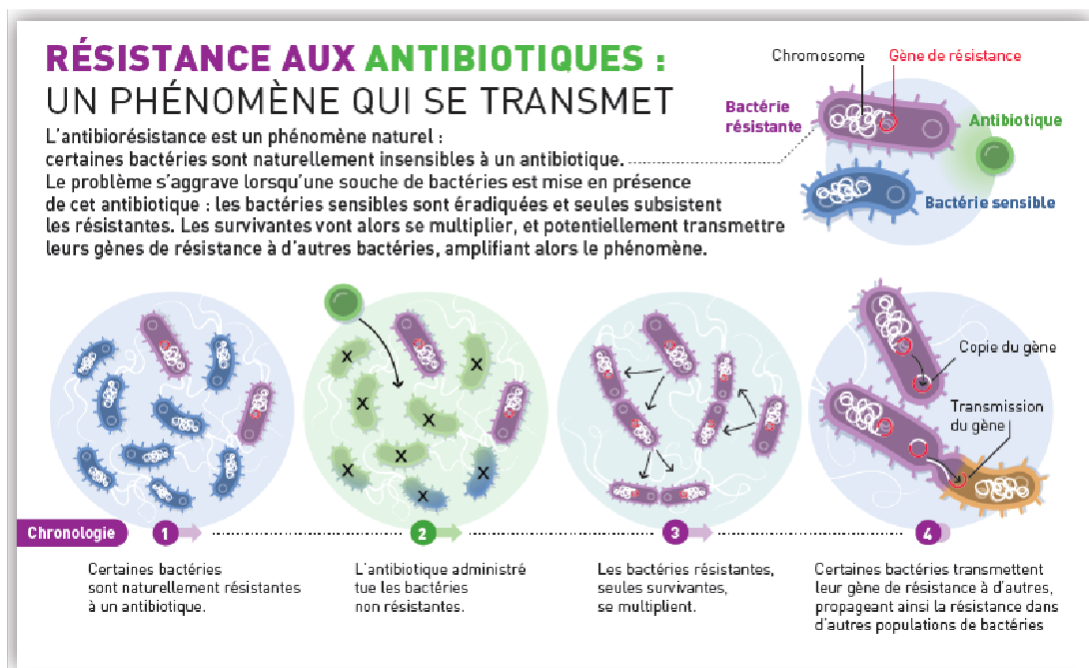


Figure 3 : La résistance aux antibiotiques (Web 1)

2. Les différents types de la résistance bactérienne aux antibiotiques :

2.1. La résistance bactérienne naturelle :

Si les antibiotiques, molécules naturelles, sont synthétisés par la plupart des microorganismes pour supplanter d'autres micro-organismes dans un environnement donné, ces substances peuvent ne pas être actives sur tous les micro-organismes. On dira que ces micro-organismes ont une résistance naturelle vis-à-vis de cette molécule. La résistance naturelle à un antibiotique donné est un caractère présent chez toutes les souches de la même espèce (Courvalin et al., 2001).

2.2. La résistance bactérienne acquise :

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme. (Mehdi S., 2008).

2.2.1. La résistance acquise par mutation chromosomique :

Les résistances bactériennes par mutation chromosomique sont induites par des modifications structurales pouvant se traduire soit par un problème de perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques, soit en rendant les cibles spécifiques des antibiotiques indifférentes. La résistance chromosomique est un phénomène qui présente plusieurs caractères exceptionnels. Il s'agit premièrement de sa rareté puisqu'il intervient en moyenne tous les 10⁵ à 10¹⁰ divisions de la bactérie. Ensuite elle possède un caractère aléatoire car l'antibiotique n'est par une molécule mutagène donc n'induit pas de mutation chez la bactérie. Cependant l'antibiotique participe à la sélection des bactéries mutantes. On note aussi son caractère spécifique (affecte un antibiotique ou une famille d'antibiotiques qui ont le même mécanisme d'action), son indépendance et son absence de transmissibilité (Courvalin et al., 2001).

2.2.2. La résistance par acquisition des gènes :

Il s'agit ici de la résistance par un gain d'ADN extra-chromosomique le plus souvent un plasmidique. Le plasmide est un fragment d'ADN extra-chromosomique (présent dans le cytoplasme) et qui peut porter un ou plusieurs gènes de résistance. Ces fragments d'ADN peuvent être transmis d'une bactérie donneuse à une autre bactérie dite receveuse ; cette transmission peut se faire entre deux espèces différentes de bactéries. A travers ce mécanisme, on se trouve face à une facilité d'acquisition de résistance et même de multi-résistance contrairement à celle acquise par mutation d'ADN chromosomique. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente), (Figure 4) (Baudry et Brézellec, 2006).

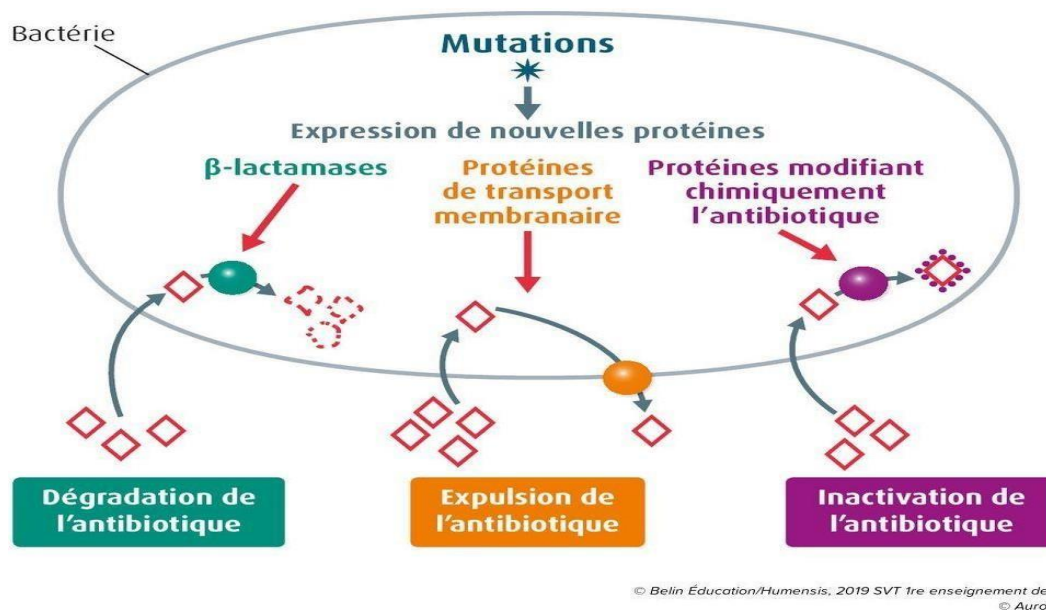


Figure 4 : L'origine de la résistance aux antibiotiques (Web 2)

2.2.3. La résistance par inhibition enzymatique :

Le micro-organisme produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique. La production enzymatique peut être induite par un facteur externe (un antibiotique) ou constante (non affectée par des stimuli externes). On appelle inductible une résistance qui se produit à la suite d'une exposition à un agent d'une classe pharmacologique donnée et constitutive lorsque les gènes à l'origine de la résistance s'expriment en permanence, même en l'absence de tout antibiotique. Les bêta-lactamases sont des enzymes produites par les bactéries et transmises par des chromosomes ou des plasmides. Elles constituent un mécanisme de résistance très efficace. Les bêta-lactamases inactivent les lactamines en détruisant le lien amide sur le cycle lactame. Puisque ce sont les antibiotiques les plus prescrits au monde, il n'est pas étonnant que la résistance à cette importante classe d'antibiotique pose un problème inquiétant. Récemment, l'hyperproduction de céphalosporinases chromosomiques de très haut niveau a conféré également une nouvelle sorte de résistance aux céphalosporines de troisième génération. Ces enzymes ne détruisent pas l'antibiotique mais inhibent l'accès à son site d'action. Elles sont synthétisées chez des espèces naturellement productrices de céphalosporinases inductibles (*Entérobactéries*, *Pseudomonas aeruginosa*) qui, à la suite d'une mutation, en produisent en très grandes quantités. Il s'agit d'un phénotype qualifié de «hyperproduction de céphalosporinases» ou de «céphalosporinases déréprimées» (Sanders et al., 1992 ; Pitout et al., 1996).

2.2.4. La résistance par la réduction de la perméabilité cellulaire :

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires : une membrane cytoplasmique sépare leur cytoplasme du milieu externe. Les bactéries à Gram négatif sont également munies d'une enveloppe additionnelle, la paroi externe, qui sert de barrière et protège les protéines de liaison aux pénicillines (PLP) du milieu externe. Les nutriments et les antibiotiques doivent traverser cette enveloppe pour pénétrer dans la bactérie. Le passage se fait par diffusion passive à travers les canaux que forment les protéines canaliculaires nommées porines (**Knothe et al., 1983**). La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'antibiotique sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie. Une altération des porines dans la paroi des bactéries à Gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action (**Pitout et al., 1996**).

2.2.5. La résistance par l'altération (ou modification) des sites de liaison :

Phénomène engendré par des chromosomes ou des plasmides, ce mécanisme de résistance produit une baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action (**Yamashita et al., 2000 ; Pitout et al., 2004**).

2.2.6. La résistance par les pompes (transporteurs) à efflux :

L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action par pompage actif de l'antibiotique vers l'extérieur de la bactérie (efflux). Les transporteurs d'efflux de plusieurs antibiotiques sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens. Ces pompes ont besoin d'énergie. L'exposition aux antibiotiques favorise une surexpression par mutation de transporteurs, entraînant une hausse de la résistance bactérienne. Il est également possible qu'une résistance par efflux apparaisse à cause de l'exposition à un antibiotique d'une autre classe. Ainsi, on sait que la ciprofloxacine peut favoriser l'émergence d'une résistance à la céphalosporine et aux macrolides par la voie de ce mécanisme . (**Mandell et al., 2009 Yamashita et al., 2000 ; Pitout et al., 2004**).

3. Mode d'action des antibiotiques :

A la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne, cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce

selon les molécules sur des sites variés (Figure 5) (Mevius *et al.*, 1999 ; Oxoby, 2002).

Les antibiotiques peuvent agir sur :

- **La paroi bactérienne** : Bacitracine, Pénicilline et Céphalosporines agissent sur les germes en croissance inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (muréine) au cours de la multiplication cellulaire. La nouvelle bactérie n'est plus protégée entraînant ainsi une lyse bactérienne (Zeba, 2005).
- **La membrane cellulaire** : en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur (Flandrois *et al.*, 1997).
- **L'ADN** : Certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase. L'actinomycine bloque la progression de l'ARN polymérase. Les sulfamides provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases nucléiques (Flandrois *et al.*, 1997), les quinolones et fluoroquinolones inhibent l'ADN gyrase (Chopra, 1998).
- **Le ribosome bactérien** : sur les ribosomes: ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales. Les aminoglycosides ou aminosides (streptomycine, gentamycine, amikacine), empêchent la traduction de l'ARNm en se fixant sur la petite sous-unité des ribosomes (Hermann, 2005).
- **Autres** : en agissant en tant qu'anti-métabolites bactériens (c'est à dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries).

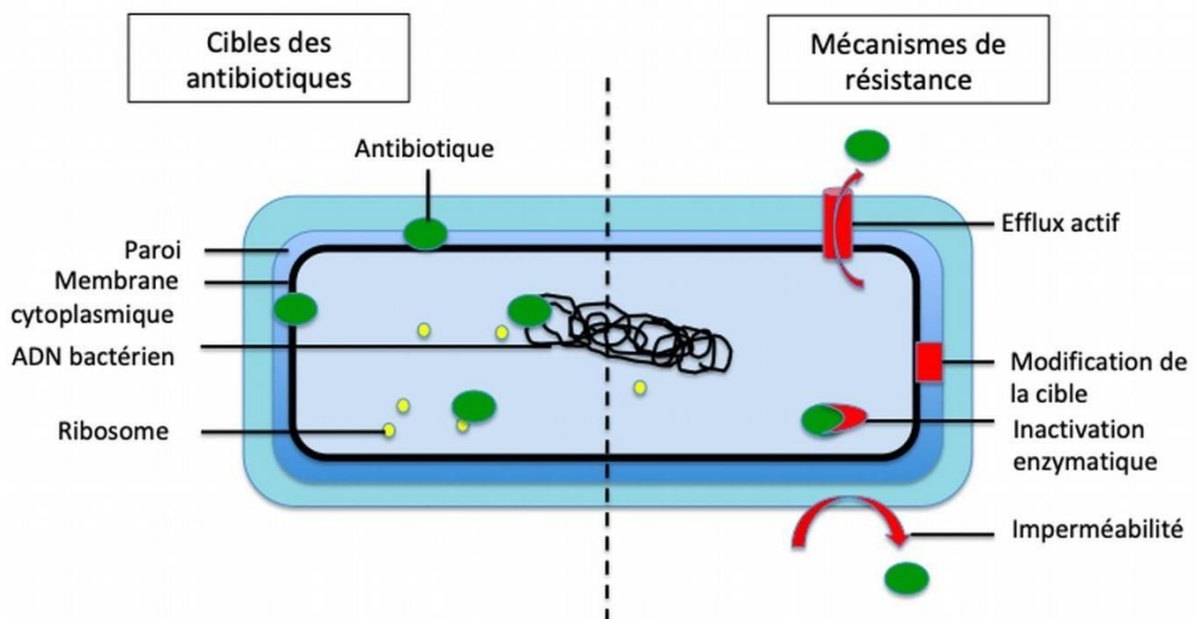


Figure 5 : Mode d'action des antibiotiques (Web 3)

Chapitre IV

La plante médicinale testée (Salvia officinalis)

1. La Présentation de plante étudiée : *Salvia officinalis*

La sauge (*Salvia officinalis*) est une espèce végétale appartenant à la famille des *Lamiaceae*. C'est une famille cosmopolite d'arbres contenant environ 31 genres et 2700 espèces. En Algérie, 30 espèces végétales sont répertoriées dans diverses régions et classées selon leurs caractéristiques morphologiques. Les plantes de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et en préparations culinaires (Longaray et al., 2007 ; Maksinovic et al., 2007).

2. Classification botanique :

La classification de *Salvia officinalis* Selon Hans (2007) est présentée dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Classification scientifique de *Salvia officinalis* (Hans, 2007).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia officinalis</i>

3. Description botanique :

Cette plante vivace à tige ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 80cm, rameaux vert-blanchâtre (**Figure 6**), Feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres, et opposées (**Figure 7**) ; fleurs bleu-violacé clair en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés (**Figure 8**). Calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée (**Figure 9**) ; fruits en forme de tétrakènes (**Khiredinne, 2013**).



Figure 6 : Aspect de la plante *Salvia officinalis*
(Madi ,2010)



Figure 7 : Les feuilles de *salvia officinalis*
(Anonyme, 2002)



Figure 8 : Les fleurs de *Salvia officinalis*
(Anonyme,2002)



Figure 9 : Les graines de *Salvia officinalis*
(Botineau,, 2010)

4. Localisation géographique :

La sauge officinale est originaire du pourtour du bassin méditerranéen. Elle pousse dans les zones tempérées. Son habitat type se situe dans les pelouses basophiles méso-méditerranéennes, méso-xérophiles. Aire de répartition : introduite d'Asie occidentale (Alloun, 2013).

Les espèces *Salvia* représentent un groupe d'espèces cosmopolites, qui montrent une gamme remarquable de variation (Pistelli, 2006). Ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde : 530 espèces à l'Amérique Centrale et Latine, 250 espèces en Asie Centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (Walker et al, 2004).

5. Usages traditionnels :

5.1. Usages pharmaceutiques :

Les sauges ont été employées comme des plantes à propriétés médicinales salutaires pendant des millénaires (**Radulescu et al., 2004**). La sauge était un composant fréquent des mélanges de tisanes recommandés pour les patients tuberculeux (**Duling et al., 2007**). L'huile essentielle de la sauge est encore utilisée en condiments d'assaisonnement, viandes traitées et liqueurs. Outre ces utilisations, les feuilles de la sauge (*S. officinalis*), montrent une gamme d'activités biologiques : antibactérienne, antifongique, antivirale et astringente (**Djerroumi et Nacef, 2013**).

5.2. Usages cosmétologiques :

Les genres *Salvia* ont un grand intérêt en cosmétologie, dont les extraits de *S. officinalis* et *S. lavandulaefolia* qui sont largement introduits dans les produits de beauté et les parfums. La sauge peut être utilisée comme compresse ou infusion ou même dans les préparations des masques de visage et leurs crèmes sont souvent appliquées sur des blessures froides près de la bouche (**Radulescu et al., 2004**).

5.3. Usages alimentaires :

Au Mexique et en Amérique Latine, les graines de quelques espèces de sauge sont intensivement employées par les Américains indigènes comme source de nourriture et aussi pour préparer ses boissons. La découverte des antioxydants a augmenté l'usage des extraits de sauge officinale connue par son activité antioxydante élevée. Elle est riche en huile essentielle que l'on extrait par distillation, vu ses propriétés importantes, elle est l'une des plantes les plus utilisées (**Radulescu et al., 2004**).

6. Composition chimique :

S. officinalis contient un grand nombre de molécules ayant des intérêts multiples pour l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacologie. Parmi ces composés, on retrouve :

- **Les flavonoïdes** : dont 4000 composés sont identifiés jusqu'à maintenant. Ces pigments sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits, et des feuilles, comme ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayons UV (**Hadi, 2004**).
- **Les tannins** : sont des molécules à poids moléculaire relativement élevé, ils possèdent deux sous-groupes : tannins hydrolysables et tannins condensés. Les premiers sont des esters d'acides

galliques et les derniers sont des polymères de polyhydroxyflavone-3-ol monomères (aussi connus sous le nom de proanthocyanidine) **(Sarmi et Cheymer, 2006)**.

- **Une huile essentielle** : constituée de composés dotés de multiples vertus thérapeutiques, exemple : camphre, cinéol et cétone monoterpéniques.

7. Propriétés thérapeutiques :

Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie : *Salvia* vient de *salvare* qui, en latin, signifie «guérir». Sa saveur est chaude, amère et astringente. elle agit contre les maux de gorge, les troubles de la digestion, elle est stimulante, tonique et stomachique. La sauge possède aussi, à divers degrés, des propriétés antispasmodiques, fébrifuges, antisudorales et emménagogues (action bénéfique sur les menstruations) **(Duke et al., 2002)**. L'huile essentielle de la sauge officinale est neurotoxique, pouvant provoquer des crises nerveuses rappelant l'épilepsie, ainsi que des vomissements. Le thujone et le camphre en sont responsables. Elle est par ailleurs bactéricide et elle est à éviter lors de la grossesse (risque de fausse couche) ou de l'allaitement **(Jean-Michel, 2012)**.

Matériel et Méthodes

Ce présent travail a été réalisé au niveau de l'unité de microbiologie du laboratoire de contrôle de qualité de la wilaya de Skikda dont le but est l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de la macération huileuse de la Sauge (*Salvia officinalis*) vis-à-vis de souches cliniques isolées à partir du pied diabétique chez des patients hospitalisés au niveau de l'hôpital Ibn Rochd-Souk Ahras.

1. Matériel:

1.1 Souches bactériennes :

9 souches bactériennes ont été isolées à partir de prélèvements de pus (pied diabétique) pris chez des patients hospitalisés au niveau de l'hôpital Ibn Rochd-Souk Ahras.

Les bactéries ont été identifiées en utilisant la Chrome agar d'orientation et l'API système.

1.2 Matériel végétal :

Une plante à des vertus médicinales a été utilisée dans ce travail, il s'agit de la sauge (*Salvia officinalis*).

1.2.1. Critères de choix de la plante :

Le choix de cette plante est basé sur une enquête ethno-pharmacologique effectuée auprès de la population ayant connaissance de leur usage en médecine traditionnelle présentant ainsi un intérêt thérapeutique grâce à la présence de molécules bioactives. Elle est utilisée principalement par les femmes Algériennes pour désinfecter et cicatriser les plaies sous forme d'une solution.

1.2.2. Séchage et conservation :

Les feuilles de *S. officinalis* fraîchement récoltées, sont laissées sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Devenues sèches, elles sont récupérées dans des bacs propres pour servir ultérieurement à l'extraction des principes actifs (**Figure 10**).



Figure 10 : Feuilles de *Salvia officinalis* Séchées (**Web 4**)

2. Méthodes :

2.1. Réalisation des prélèvements :

Avant tout prélèvement, il est important de désinfecter le site opératoire (cutané) du centre vers la périphérie. S'il s'agit d'une plaie superficielle le prélèvement se fait avec un écouvillon stérile (**Figure 11**).



Figure 11 : Prélèvement de pus d'une plaie superficielle (**Prise personnelle**)

2.2. Préparation des extraits :

Les extraits utilisés au cours de notre étude sont préparés selon deux modes d'extraction : l'huile essentielle (hydrodistillation) et macération huileuse.

2.2.1. Extraction de l'huile essentielle :

L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation. L'hydrodistillation a été réalisé à l'aide d'un dispositif expérimentale de type Clevenger (**Figure 12**). L'extraction dure 2h30. En plaçant 100g de matière végétale aérienne séchée dans un ballon avec de l'eau distillée, puis en chauffant. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant, l'huile se sépare de l'eau par différence de densité. L'huile essentielle est stockée à 4C°.

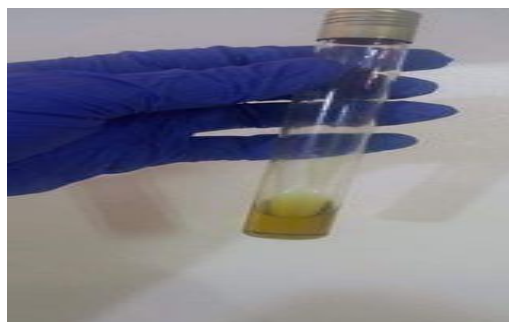


Figure 12 : l'huile essentielle de la sauge (*Salvia officinalis*) (**Prise personnelle**)

2.2.2. Préparation de la macération huileuse :

a. Principe de la macération huileuse :

Elle consiste à mettre une plante ou une partie de plante, dans une huile végétale (macération huileuse) pendant plusieurs heures, voir plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser et extraire ainsi, les principes actifs liposolubles (**Kraft et Hobbs, 2004 ; Baba-Aïssa, 2000**).

b. Technique :

La préparation de l'extrait huileux par macération se fait comme suit (**Figure13**) :

- 5 g de la poudre de feuilles sont mis en macération dans 50 ml d'huile végétale.
- Le flacon en verre sombre hermétique est enveloppé avec du papier aluminium, et conservé à température ambiante pendant 20 jours.
- Après 20 jours, l'extrait est récupéré par filtration dans un flacon sombre et conservé à 4°C.



Figure 13 : Macération huileuse de la sauge (*Salvia officinalis*) (Prise personnelle)

A partir des extraits obtenus plusieurs concentrations ont été préparés (utilisant méthanol comme solvant) et testés : 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62.5 µg/ml ,30 µg/ml et 15.25 µg/ml (**Figures 14**).



Figure 14 : La série des dilutions des deux extraits (**Prise personnelle**)

2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits préparés :

2.3.1. Détermination des diamètres des zones d'inhibition :

Protocole expérimental :

- Préparation de l'inoculum :

Préparer un inoculum à partir d'une culture pure de 18 h sur milieu d'isolement, bien homogénéiser la suspension bactérienne (son opacité doit être équivalente à une DO de 0,08 lue à 625 nm).

L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

- L'ensemencement :

L'inoculum a étéensemencé sur des boites de Petri contenant le milieu Mueller Hinton (MH) par écouvillonnage.

- Application des disques :

Une fois les géloses MH sontensemencées, déposer quatre disques de papier buvard stérile dans chaque boite.

- Application des différentes dilutions des extraits :

30 µl de l'extrait sont déposés sur chaque disque en utilisant la micropipette munie d'embout stérile, ensuite, laisser les boites à température ambiante pendant 2 heures.

- Incubation :

Se fait à 37 °C pendant 18 h.

- Lecture :

Se fait en mesurant avec précision les diamètres, en mm, des zones d'inhibition. (**Rahal, 2005**),

(**Figure 15**)

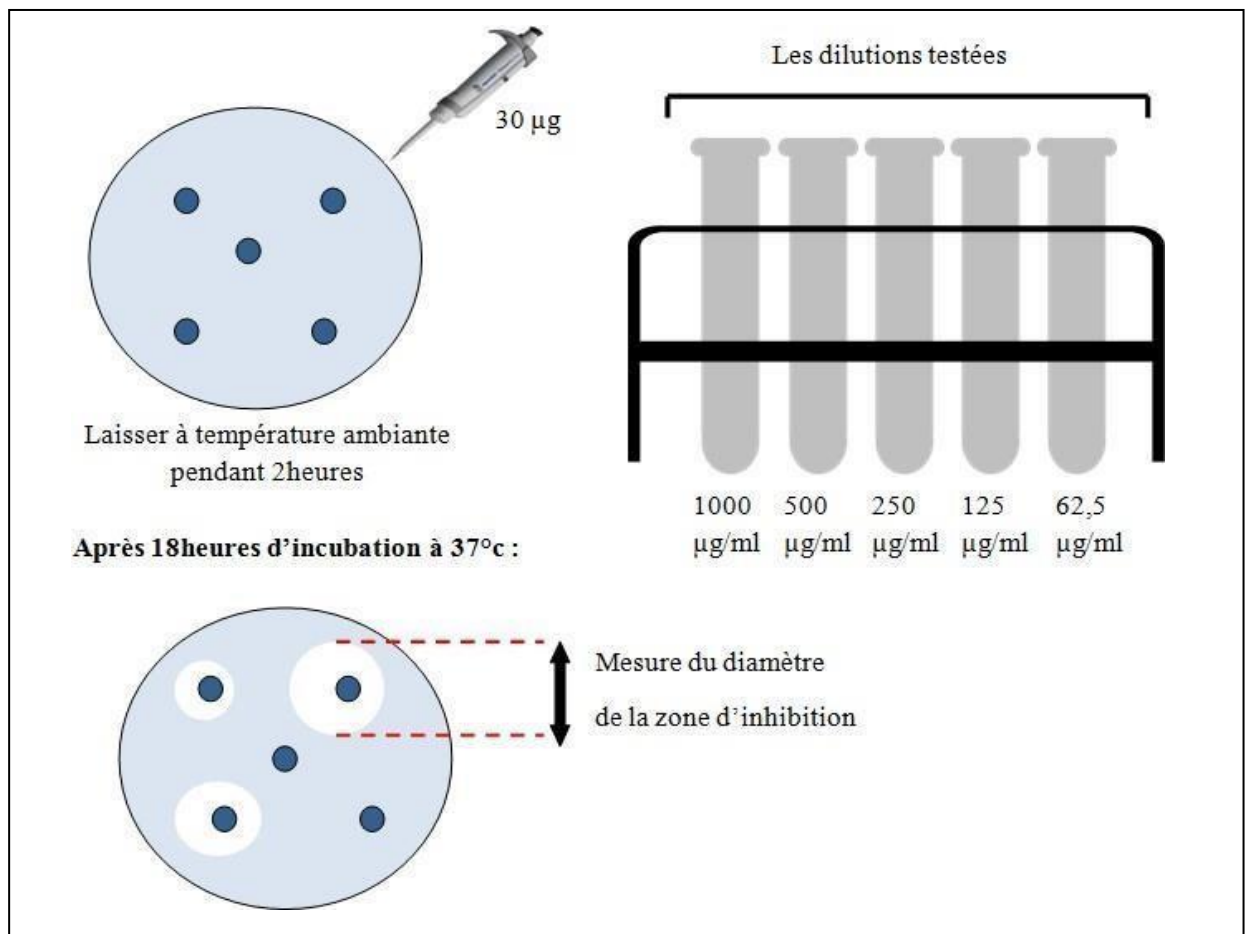


Figure 15 : Détermination des diamètres des zones d'inhibition (Web 5)

2.3.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) :

Protocole expérimental :

- Ensemencement :

Chaque tube contenant 1 ml de bouillon MH est inoculé par la suspension bactérienne, puis un volume de 100 µl de chaque concentration de l'extrait a été ajouté.

- Un tube contenant l'inoculum et non traité par l'extrait, a été préparé et considéré comme témoin.

- Incubation :

Se fait à 37°C pendant 18 h.

- Lecture :

Se fait par comparaison avec le tube témoin ; la dilution qui donne le premier tube clair c'est-à-dire pas de croissance bactérienne, détermine la CMI (Rahal, 2005), (Figure 16).

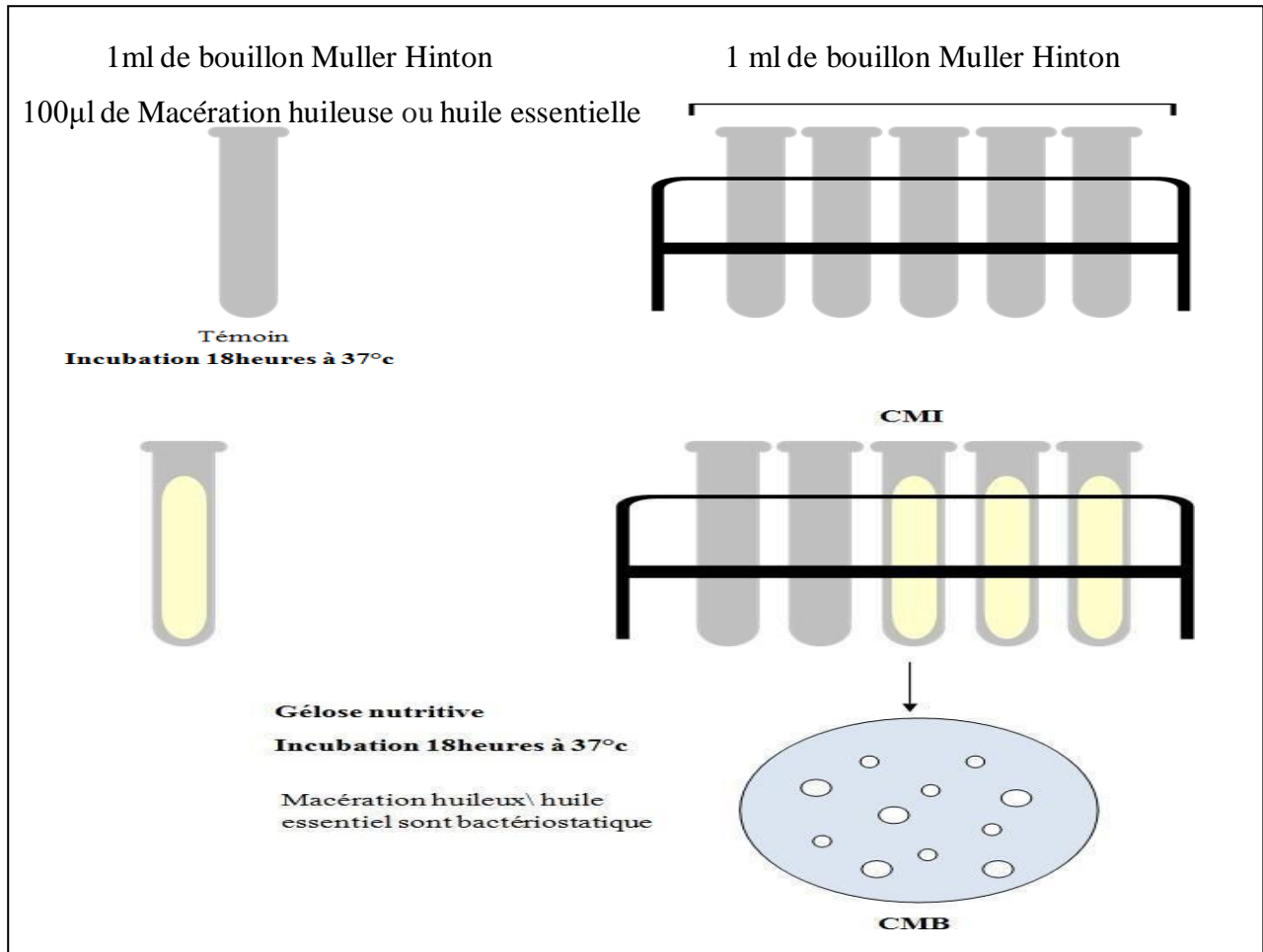


Figure 16 : Détermination de la CMI et la CMB (Web 6)

2.3.3. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) :

Protocole expérimental :

- Ensemencement : à partir du tube de la CMI qui ne montre pas de turbidité un volume de 100 µl est déposé sur une boîte contenant de la gélose nutritive.
- Incubation : se fait à 37°C pendant 18h.
- Lecture : la CMB correspond à la plus petite concentration d'extrait pour laquelle aucune croissance n'est observée et qui correspond à un dénombrement bactérien inférieur à 10² UFC/ml (Ganiere et al., 2004) (Figure 16).

Résultats

1. Identification des souches bactériennes isolées :

Les résultats de l'identification à savoir : l'étude de l'aspect macroscopique , et par la Chromagar d'orientation (**Figure 17**) ainsi que l'API système, nous ont permis d'isoler 9 bactéries responsables de l'infection du pied diabétique. A savoir : *Klebsiella pneumoniae*

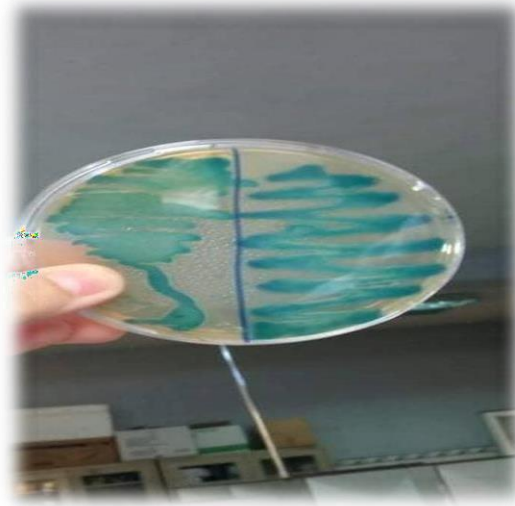


Figure 17 : Identification des souches bactériennes par la Chromagar d'orientation (**Prise personnelle**)

2. Les caractéristiques organoleptiques de l'extrait de la plante testée *Salvia officinalis*

2.1. Les caractéristiques organoleptiques du macérât huileux des feuilles de *S. officinalis*:

L'extrait huileux a été préparé par macération de la poudre des feuilles de *S. officinalis* dans de l'huile de tournesol selon le protocole décrit (**Figure18**). Les caractéristiques organoleptiques du macérât testé sont présentées dans le (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Caractéristiques organoleptiques de l'extrait huileux de *S. officinalis*.

Extrait huileux	Caractéristique
Aspect	Liquide
Couleur	Jaune
Odeur	Caractéristique de la plante

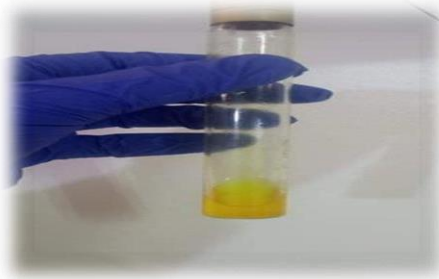


Figure 18: Macération huileuse des feuilles de *S. officinalis* (Prise personnelle).

2.2. Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle des feuilles de *S. officinalis* :

L'huile essentielle a été préparée par hydrodistillation des feuilles de *S. officinalis* (Figure 19). Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle testée sont présentées dans le (Tableau 3).

Tableau 3 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *S. officinalis*.

L'huile essentielle	Caractéristique
Aspect	Visqueux
Couleur	Verdâtre
Odeur	Caractéristique de la plante

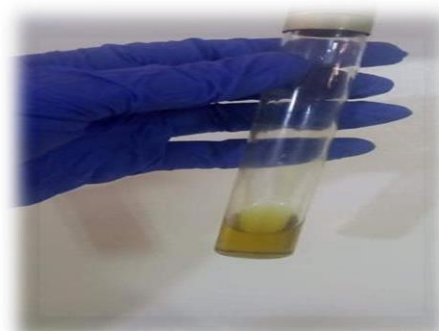


Figure 19: L'huile essentielle des feuilles de *S. officinalis* (Prise personnelle).

3. Evaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits des feuilles de *S. officinalis* :

3.1. Détermination des zones d'inhibition et des CMI de l'extrait huileux des feuilles de *S. officinalis* vis-à-vis des souches cliniques :

Les résultats de l'évaluation de l'effet antibactérien de la macération huileuse des feuilles de *S. officinalis* vis-à-vis des souches bactériennes sont présentés dans le **tableau 4**.

Les diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* varient entre 10 et 13mm et les CMI sont faibles variant entre 15.62 et 500µg/ml. En ce qui concerne les souches de *Streptococcus sp.*, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 13 et 20 mm (**Figure 20**) et les CMI entre 15.62 et 125µg/ml.

Concernant la souche d'*E. coli* le diamètre de la zone d'inhibition est égale à 14mm et la CMI égale à 15,62 µg/ml (**Figure 21**). Une seule souche de *K. pneumoniae* 4 s'est montrée sensible avec un diamètre de la zone égale à 13 mm et une CMI égale à 31,25 µg/ml. Les autres souches se sont montrées résistantes (**Figure 22**).

Tableau 4 : Les diamètres des zones d'inhibition et les valeurs des CMI des souches bactériennes cliniques vis-à-vis de la macération huileuse des feuilles de *S. officinalis*.

les souches cliniques	Macération huileuse des feuilles de <i>S. officinalis</i>	
	Z.I. (mm)	CMI (ug/ml)
<i>S. aureus</i> 1	R	/
<i>S. aureus</i> 2	R	/
<i>S. aureus</i> 3	12 mm	62 5
<i>Streptococcus sp</i>	20 mm	15.62
<i>E.coli</i>	14 mm	15.62
<i>K. pneumoniae</i> 1	R	/
<i>K. pneumoniae</i> 2	R	/
<i>K. pneumoniae</i> 3	R	/
<i>K. pneumoniae</i> 4	13mm	31.25
<i>K.pneumoniae</i> 5	R	/

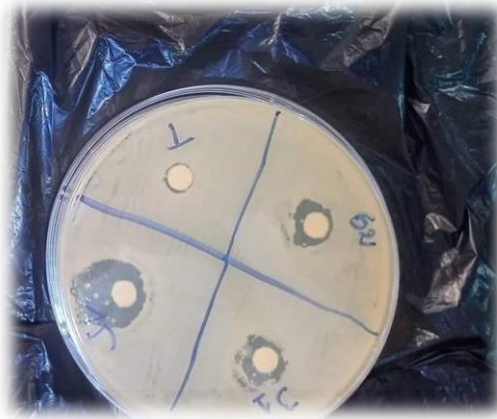


Figure 20 : Les diamètres des zones d'inhibition de la souche *Streptococcus sp.* vis-à-vis de macération huileuse de *S. officinalis* (**Prise personnelle**).

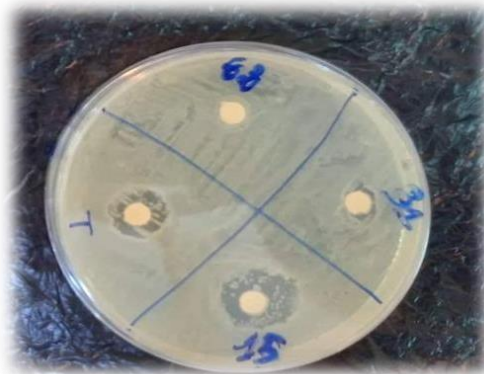


Figure 21 : Les diamètres des zones d'inhibition de la souche *E. coli* vis-à-vis de la macération huileuse de *S. officinalis* (**Prise personnelle**).

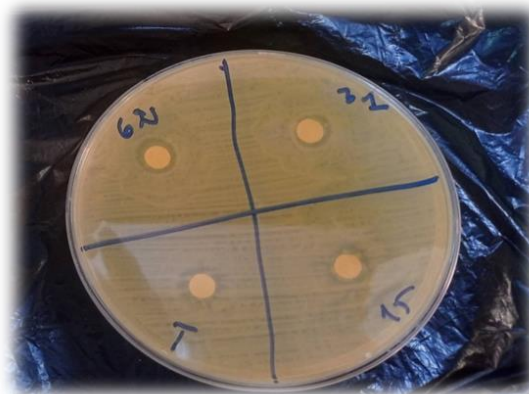


Figure 22 : Les diamètres des zones d'inhibition de la souche *k. pneumoniae 1* vis-à-vis de macération huileuse de *S. officinalis* (**Prise personnelle**).

3.2. Détermination des zones d'inhibition et des CMI de l'huile essentielle des feuilles de *S. officinalis* vis-à-vis des souches cliniques :

D'une façon générale, des résultats très intéressants sont obtenus avec l'huile essentielle extraite à partir des feuilles de *S. officinalis* vis-à-vis des souches cliniques isolées (**Tableau 6**).

En ce qui concerne les deux souches de *S. aureus* on a noté une résistance contrairement à la souche Streptococcus sp. (Gram positif) le diamètre de la zone d'inhibition est égale à 13mm et la CMI à 125 µg/ml.

Pour les souches Gram négatif, les diamètres varient entre 12 et 17 mm et les CMI, très intéressantes, variant entre 15,62 et 62,5 µg/ml (**Figures 23 et 24**).

Tableau 5 : Les diamètres des zones d'inhibition et les valeurs des CMI des souches bactériennes cliniques vis-à-vis du l'huile essentielle des feuilles de *S. officinalis*.

les souches cliniques	L'huile essentielle des feuilles de <i>S. officinalis</i>	
	Z.I. (mm)	CMI (ug/ml)
<i>S. aureus 1</i>	R	/
<i>S. aureus 2</i>	R	/
<i>S. aureus 3</i>	13 mm	15.62
<i>Streptococcus sp</i>	13 mm	125
<i>E. coli</i>	17 mm	15.62
<i>K. pneumoniae 1</i>	R	/
<i>K. pneumoniae 2</i>	15 mm	15.62
<i>K. pneumoniae 3</i>	12 mm	62.5
<i>K. pneumoniae 4</i>	17 mm	15.62
<i>K. pneumoniae 5</i>	13 mm	62.5

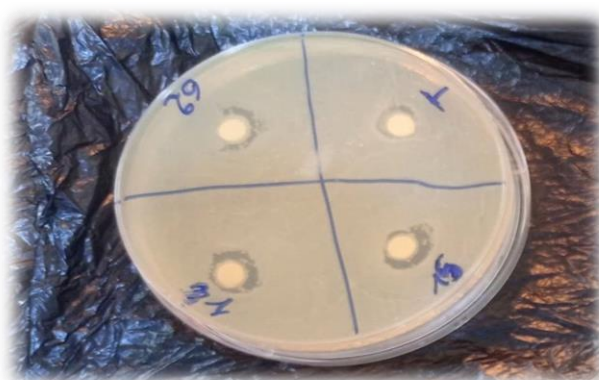


Figure 23 : Les diamètres des zones d'inhibition de la souche *E. coli* vis-à-vis de l'huile essentielle de *S. officinalis* (**Prise personnelle**).

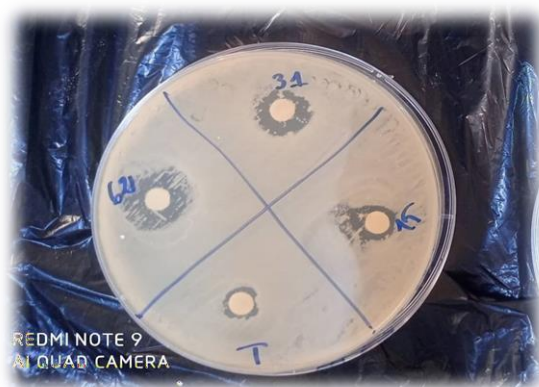


Figure 24 :Les diamètres des zones d'inhibition de la souche *K. pneumoniae* 4 vis-à-vis de l'huile essentielle de *S. officinalis* (**Prise personnelle**).

Discussion

Les infections bactériennes de la peau et des plaies peuvent sérieusement diminuer la qualité de vie et même entraîner la mort chez certains patients. L'une des plus grandes préoccupations dans leur traitement est la résistance bactérienne croissante aux agents anti-infectieux et la propagation de souches résistantes non seulement dans les hôpitaux mais aussi dans la communauté. Cette tendance encourage les chercheurs à rechercher de nouveaux agents thérapeutiques sûrs. L'industrie pharmaceutique, qui se concentre principalement sur les composés synthétiques comme source de découverte de médicaments, échoue souvent dans la bataille contre les bactéries. En revanche, de nombreux composés naturels, et/ou extraits de plantes entières sont efficaces dans ce domaine, inactivant les souches bactériennes résistantes ou diminuant leur virulence. Les produits naturels agissent de manière globale, beaucoup d'entre eux ont non seulement des effets antibactériens, mais aussi anti-inflammatoires et peuvent favoriser la régénération des tissus et la cicatrisation des plaies (**Bittner Fialová et al., 2021**).

Le législatif européen dans le domaine des produits naturels à usage médical constitué par l'Agence européenne des médicaments (AEM), sur la base des travaux scientifiques de son Comité des médicaments à base de plantes (CMP) a établi des monographies européennes couvrant les utilisations thérapeutiques et les conditions de sécurité des substances et des préparations à base de plantes, principalement basées sur la médecine populaire, mais incluant des données issues de la recherche scientifique (**Bittner Fialová et al., 2021**).

Parmi ces infections on peut citer celle du pied diabétique que nous avons essayé de traiter dans ce mémoire de fin d'étude.

Les infections du pied diabétique ou encore appelées ulcères du pied diabétique (UPD) sont des lésions microvasculaires très importantes liées au diabète qui sont la conséquence de plusieurs facteurs prédisposants, tels que la maladie artérielle périphérique, les anomalies osseuses, la neuropathie diabétique ou les infections qui, sans prise en charge appropriée, peuvent entraîner des conditions cliniques très graves et, éventuellement, l'amputation des membres inférieurs. La première cause d'amputation des membres inférieurs dans le monde est le diabète, et il est rapporté que 15 à 25 % des patients diabétiques présentent des ulcérations du pied au cours de leur vie. Il s'agit d'un problème majeur de santé publique avec un impact économique très important estimé à environ 8659 \$ par patient annuellement en Amérique du Nord seulement (**Zhang et al., 2017 ; Ramirez-Acuña et al., 2019**).

Il est donc essentiel de tenir les patients diabétiques informés des nouvelles thérapies et traitements et de leur disponibilité dans le système de santé. Le traitement des UPD nécessite une approche multidisciplinaire avec des outils médicaux, des compétences et des connaissances appropriés. Cela

commence par l'éducation du patient, avec l'application de nouvelles classifications pour guider le traitement afin de prévenir amputations.

De nouvelles méthodes de diagnostic sont disponibles, comme l'étude de la séquence d'ARN ribosomique 16S chez les bactéries, pour permettre une meilleure compréhension du microbiote. Il est rapporté les infections du pied diabétique sont de nature polymicrobienne et qui diffèrent Selon sa localisation, les caractéristiques de la plaie, les antibiogrammes, la thérapie guidée antimicrobienne individualisée, le débridement régulier, l'évaluation régulière des plaies et le changement des pansements (**Ramirez-Acuña et al., 2019**).

Dans ce travail nous avons isolé un total de 9 souches bactériennes à partir de prélèvements de pus pris à partir du pied diabétique de patients hospitalisés au niveau de l'hôpital Ibn Rochd-Souk Ahras. Après identification des souches cliniques, nous avons trouvé les espèces suivantes : *S. aureus*, *Streptococcus sp.*, *E. coli* et *K. pneumoniae*. Sur ces souches isolées, nous avons testé l'activité antibactérienne de l'extrait huileux et l'huile essentielle de *Salvia officinalis* ou la sauge en mesurant les diamètres des zones d'inhibition et en déterminant la CMI.

En ce qui concerne l'extrait huileux, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 12 et 20 mm et les CMI entre 15,62 et 62,5 µg/ml. La plupart des souches de *S. aureus* et *K. pneumoniae* se sont montrées résistantes. Le meilleur résultat a été obtenu avec la souche de *Streptococcus sp.*

De meilleurs résultats ont été obtenus avec l'huile essentielle où les diamètres des zones d'inhibition varient entre 12 et 17 mm et les CMI entre 15,62 et 62,5 µg/ml. Seules deux souches de *S. aureus* et une souche de *K. pneumoniae* se sont montrées résistantes.

Vu l'intérêt de cette plante médicinale, plusieurs études ont été faites. **Khalil et Li (2011)** ont évalué l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *S. officinalis* sur *S. aureus* and *Streptococcus* groupe D, *Candida albicans*, *E. coli* et *Salmonella sp.* et ont noté une sensibilité de toutes ces souches testées. Par rapport à nos résultats, juste quelques souche de *S. aureus* et *K. pneumoniae* se sont montrées résistantes et ceci peut être expliqué par le fait que les souches généralement isolées à partir du pied diabétique sont plus résistantes par rapport aux souches isolées à partir d'autres prélèvements.

Une étude menée par **Masafa et al., (2014)** sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de la sauge (*S. officinalis*) sur des souches cliniques de *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*. Les résultats obtenus de la CMI sont 18,75 mg/ML, 26,56

mg/mL, 33,75 mg/mL et 31.25 mg/mL respectivement. Ces valeurs de CMI sont bien plus supérieures que nos valeurs obtenus avec l'extrait huileux ainsi que l'huile essentielle.

L'activité antibactérienne de *S. officinalis* est due essentiellement à la présence de nombreux composants biologiquement actifs et qui peuvent être divisés en monoterpènes, diterpènes, triterpènes ainsi que des composants phénoliques (**Bahadori et al., 2017 ; Aswir et Gunasegavan, 2021**).

Conclusion et perspectives

Conclusion :

Les infections du pied diabétique sont un problème fréquent, associé à une importante morbidité et dont la prise en charge est multidisciplinaire. La recherche clinique dans le domaine de la microbiologie a permis d'améliorer notre compréhension de la pathophysiologie des infections du pied diabétique et autorisera à l'avenir des traitements davantage ciblés. De nombreuses recherches ont porté sur les extraits des plantes et les huiles essentielles afin de trouver de nouvelles sources d'agents antimicrobiens naturels et remplacer ainsi les antibiotiques devenus inactifs.

Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer l'activité antibactérienne, *in vitro*, de l'extrait huileux et de l'huile essentielle des feuilles de *Salvia officinalis* (la sauge). L'évaluation de l'activité antibactérienne nous a permis de mettre en évidence l'effet antibactérien des deux extraits de *Salvia officinalis* vis-à-vis des différentes bactéries isolées où les diamètres des zones d'inhibition sont compris entre 12 et 20 mm et les CMI entre 15,62 et 62,5 µg/ml pour l'extrait huileux. De meilleurs résultats ont été obtenus avec l'huile essentielle où les diamètres des zones d'inhibition varient entre 12 et 17 mm et les CMI entre 15,62 et 62,5 µg/ml. Quelques souches de *S. aureus* et de *K. pneumoniae* ont montré une résistance.

Enfin, nos résultats indiquent que l'huile essentielle ainsi que l'extrait huileux des feuilles de *Salvia officinalis* présentent une activité antibactérienne variable selon les espèces testées mais qui reste intéressante dans le traitement des infections du pied diabétique.

En perspective :

Tester les différents extraits de *Salvia officinalis* sur un grand nombre de bactéries isolées à partir de différents prélèvements.

Il sera intéressant de mener une étude plus approfondie sur la composition de l'huile essentielle ainsi que l'extrait huileux préparés à partir des feuilles de *Salvia officinalis* afin d'isoler, de purifier et d'identifier les composés ayant une activité antibactérienne.

Références bibliographiques

A

Ait lhaj ou said Z., (2014). Prise en charge en milieu d'urgence du pied diabétique. Thèse de Doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad Marrakech. 78p.

Alexis G.D., (2014). Etude des modifications structurales et fonctionnelles de l'albumine dans le diabète de type 2 : identification de biomarqueurs de glycoxydation et de facteurs de risque de complications vasculaires. Thèse de doctorat : Biochimie. Université de la Réunion France. 170p.

Alloun K., (2013). Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L.), de la sauge (*Salvia officinalis* L.) et de la rue des montagnes (*Ruta montana* L.)Thèse de doctorat.

Andrew B., (2005). Le pied diabétique : épidémiologie, facteurs de risque et état des soins, Pp : 2.

Anonyme ., (2002). Pharmacopée européenne. 4ème édition, Strasbourg. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* and *Salvia triloba*.

Aswir A.R., Gunasegavan Rathi D.N., (2021). Bioactive Components of *Salvia* and Their Potential Antidiabetic Properties: A Review. *Molecules*, 26, 3042

B

Badri G ., Tahri N., (2016). Aspect bactériologique des infections du pied diabétique. Mémoire de master : Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement. Université de Larbi Tébessi-Tébessa. 34p.

Bahadori M.B., Salehi P., Sonboli A., (2017). Comparative study of the essential oil composition of *Salvia urmiensis* and its enzyme inhibitory activities linked to diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Int. J. Food*. 20: 2974-2981.

Basli A., Chibane M., Madani K., Oukil N., (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 10 (1): 2-9.

Bergeron E., (2013). Staphylocoque, staphylocoque doré ou cocci Gram positif [en ligne] passeport santé. Disponible sur «[https://www.passeportsante.net/fr/Maux/problemes/Fiche.aspx ? Doc= staphylocoques](https://www.passeportsante.net/fr/Maux/problemes/Fiche.aspx?Doc=staphylocoques)»

Bittner Fialová S., Rendeková K., Mucaji P., Nagy M., Slobodníková L., (2021). Antibacterial Activity of Medicinal Plants and Their Constituents in the Context of Skin and Wound Infections, Considering European Legislation and Folk Medicine—A Review. *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 10746.

Botineau M., (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed., Lavoisier, Paris, 1043 p.

C

Camille D., (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire : Recherche de bactéries et de levures-moisissures, Paris : poiteaux.C. p234.

Carpenter J.L., (1990). Klebsiella pulmonary infections: occurrence at one medical center and review. *Reviews of Infectious Diseases*, 12 : 672-682

Cattoir V., Gérard L., (2014). Les bactéries à Gram positives multirésistantes : probabilité de résistance ? Que craindre ? *Bull. Acad. Natle Méd.*198.3 :427-438Pp.

Chabbert Y.A., (1982) Sensibilité bactérienne aux antibiotiques. In : *Bactériologie Médicale* (L. Le Minor & M. Véron, eds.), Flammarion Médecine Sciences, Paris, Pp. 204-212.

Chevenne D et Porquet D., (2003). Diabète sucré. In Delattre J, Durand G et Jardillier J.C. *Biochimie pathologique.* France : Médecine-sciences flammarion. Pp :188.

Chopra, I., (1998). Research and developpementof antibacterial agents. *Current opinion in Microbiology*, 1, 495-501.

Courvalin, P., F. Denis, M.-C. Ploy, M. P. d. garilhe, P. Trieu-Culot and Universalis., (2001). "Antibiotiques." Retrieved 24 mai, 2013.

D

DECOSTER A., (2003). Cours de Bactériologie et Virologie. <http://annedecoster.free.fr/bindex.htm> (mis à jour 25/ 03/ 2003).

Denise pothier., (2002), guide pratique de podologie : annoté pour le diabétique, Pp 142 et 150-154.

Denis F ., Poly MC., Martin C., Bingen E., Quentin R ., (2011). Bactériologie médicale : techniques usuelles. Edition MASSON.295Pp.

Dieye P.I., SARR S.O., (2020). État de la recherche de molécules cibles antimicrobiennes issues de plantes en Afrique. *Afrique science*, 16(1): 348 – 374.

Djerroumi A., Nacef, M. (2013) - 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed. Houma.

Drouin P, Blickle J.F, Charbonnel B, Eschwege E, Guillausseau P.J, PlouinP.F, Daninos J.M, Balarac N,Sauvanet J.P., (1999). Diagnostic et classification du Diabète Sucré : Les Nouveaux Critères. *Rapport des experts de l'ALFEDIAM.* 25(1) :72-83.

Duling E.N., Owen J.C., John B.G., Rosmary F.W., Kevin A.M., Yeap L.F., & Nigel. B.P., (2007) - Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using.

Duke J A., Bogenschutz-godwin du cellier M J., et Duke P.A.K., (2002). Medicinal Herbs. Edition CRC Press LLC.Pp:201.

E

EL Allali B., (2015). Prise en charge chirurgicale du pied diabétique. Thèse de doctorat : en médecine. Université Mohammed V – RABAT.

F

Flandrois, J.C., Courco, L., Lemeland, J.F., Ramuc, M., Sirot, J. et Souny, C.J., (1997). Bacteriologie médicale. Presses Universitaire de Lyon. ISBN 2 7297 0567 8.

G

Ganiere J.P., Mangion C., Peridy M., (2004). Détermination des concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides de la cefquinome, la marbofloxacin, la tylosine et la spiramycine en solution dans du lait vis-à-vis de bactéries isolées de mammmites bovines. Revue médecine vétérinaire. 155, 8(9): 411- 416.

GASMI K, SAHRAOUI H., (2018). Antibiorésistance des souches bactériennes impliquées dans les infections du pied diabétique. Mémoire de master : Microbiologie Appliquée. Université Kasdi Merbah Ouargla. 59Pp.

Georges H.V., (2011). Le pied diabétique. Paris : Elsevier Masson. Pp.17. [en ligne]. Disponible sur : « https://books.google.dz/books?id=zNEr_do8uncC&pg=PA24&dq=pied+diab%C3%A8tique&hl=fr&source=gbs_toc_r&cad=4#v=onepage&q=pied%20diab%C3%A8tique&f=false » Consulté le 20/04/2019.

Greator, J. S., et G. M. Thorne., (1994). Humoral immune responses to Shiga-like toxins and Escherichia coli O157 lipopolysaccharide in hemolytic-uremic syndrome patients and hea.

H

Hadi M., (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro oxydant ou capteurs de radicaux libres. Etudes et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université Louis Pasteur.

Hermann, T., (2005). Drugs targeting the ribosome. Current opinion in Microbiology. 15, 355-366. lthy subjects. J. Clin. Microbiol. 32:1172-1178.

J

Jacques M ., Marie L.,Agnès H & Jocelyne B., (2015). Médecine des maladies métaboliques, Revu de formation médicale contenue, société francophone du diabète alfediam, ELSEVIER MASSON, Pp : 11.

Jean-Michel., (2012). plantes médicinales et huiles essentielles : phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles.

K

Khadir A., (2014). Effet inhibiteur de certains extraits de plantes aromatiques sur des souches de *Staphylococcus aureus* résistance à la méticilline SARM isolées du CHU de Tlemcen. Thèse de Doctorat en Biologie Cellulaire et Biochimie. Université Aboubeker Belkaïd-Tlemcen. 158Pp.

Khalil R., Li Z.G., (2011). Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. *African Journal of Biotechnology*, 10(42) : 8397-8402.

Khirdine, H., (2013). comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. these magister. université M'Hamed Bougara.Pp : 11-13

Knothe, G.P., Shah, P., Kremery, V., Antai, M., Mitsuhashi, S., (1983). Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumonia* and *Serratia marcescens*. *Infection*. 11, 315-317.

Kraft K., Hobbs C., (2004). Pocket Guide to Herbal Medicine. Thieme, Stuttgart, New York. Pp16.

L

Lecaque J., (2011). Place du pharmacien d'officine dans les campagnes de dépistage du diabète de type 2 et dans l'éducation thérapeutique du patient diabétique. Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université Henri Poincaré Nancy I. 137p.

Leclerc H., gaillard let simon,etM., (1995) .Microbiologie générale "La bactérie et le monde bactérien" ., Paris., Pp: 420, 423, 440 et 441.

Levine, M.M., (1987). *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J. Infect. Dis.* 155: 377-389.

Lipsky,B.A.Berendt,A.R.,Embil,J.&De Lalla,F .,(2004).Diagnosing foot infections .*Diabetes/metabolism research and reviews* 20 supp 1 , S56-645.

Longaray Delmare. A.P, Ivete T.M.P, Liane. A, Luciana. A.S et Sergio. E., (2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* and *Salvia triloba* cultivated in south brazil. Food chemistry, 100, 603-608.

M

Madi Aicha., (2010) . Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugue) et la mise en évidence de leurs activités biologiques.

Maksimovic M., Danijela V., Mladen M., Marija E.S., Sabaheta A., et Sonja S.Y. , (2007).

Effet of the environmental condition on essential oil profile in two dinaric *Salvia* species *Salvia brachyd on vandas* and *Salvia officinalis* L. Biochemical Systematics and Ecology. 35, 473-478.

Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell., (2009). Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Sixième édition, Elsevier, Churchill Livingstone éditeurs, USA. Édition en ligne. <http://www.ppiconline.com> (site visité le 1er avril 2009)

Mansour K., (2012). Etude des facteurs associés aux complications Chez les diabétiques du RSSB Préfecture des arrondissements de Ben Msik Année 2012.

Mehdi. S ., (2008). La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat .these.[en ligne] .pour l'obtention du doctorat en pharmacie. rabat : université Mohammed faculté de médecine et de pharmacie, 48-51pp.

Mevius, D.J., Rutter, J.M, Hart, C.A., Imberechts, H., Kempf, G., Lafont, J.P., Luthman, J., Moreno, M.A, Pantosti, A., Pohl, P., Willadsen, C.M., (1999). Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products, Editions Le point vétérinaire. Pp 1-57 .

Montet, M-P., (2009). Contamination des aliments par les *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) en France, et importance de l'acido-résistance des souches. Thèse. École Pratique des Hautes Études. 72 p.

Mosafa E., Yahyaabadi S., Doudi M., (2014). In-Vitro Antibacterial Properties of Sage (*Salvia officinalis*) Ethanol Extract against Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. ZJRMS, 16 (10): 42-46.

Munjal ,Y.P et Surendra, K. S., (2012).API Textbook of medicine.JP Medical:9ème Edition. Pp1090.

N

Naouli., (2018). LE PROFIL BACTERIOLOGIQUE DU PIED DIABETIQUE .Pp : 9.

Nilius, A.M., Et Ma, Z., (2002). Ketolides: the future of microlides? Current Opinion in pharmacology. 2, 1-8

O

OMS., (2018). Réduction de la consommation inutile d'antibiotiques : la France encore très loin du compte. Semaine mondiale du bon usage des antibiotiques.

OMS., (2019). Diabète sucré. [En ligne]. Disponible sur <<<https://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs138/fr/>>> Consulté le 25/03/2019.

O'Neill J., (2016). Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. The review on antimicrobial resistance.

Oxoby, M., (2002) Etudes sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucyclinones, Thèse de docteur en chimie organique de l'université Bordeaux I, école doctorale des sciences chimiques. Pp 3-12.

p

Pitout, J.D., Hanson, N.D., Church, D.L., Laupland, K.B., (2004). Population-based laboratory surveillance for Escherichia coli-producing extended-spectrum β -lactamases : importance of community isolates with blaCTX-M Genes. Clin Infect Dis. 38, 1736-1741.

Pistelli L., (2006) . Photochemicals from lamiaceae : from nutraceuticals to Hallucinogens. International symposium The Labiatae : Advances in Production, Biotechnology and Utilization, Sanremo, Italy : 22-25 February 2006.

Podschun R. & Ullmann U., (1998). Klebsiella spp. As nosocomial pathogens : epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clinical Microbiology Review, 11 : 589-603.

Pohl, P., Lintermans, B., Mainil, J., et Deprez, P., (1989). Production de vérocytotoxine par les Escherichia coli du porc. Annales de Médecine Vétérinaire. 133 : 31-38.

R

Radulescu V., Silvia C & Eliza O. (2004) . Capillary gas chromatography-mass Spectrometry of volatile and semi volatile compound of Salvia officinalis. Journal of Chromatography A. Vol.1027, pp.121-126.

Rahal F., (2005). Standardisation de l'Antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 3ème édition, Algérie.

Ramirez-Acuña J.M., Cardenas-Cadena S.A., Marquez-Salas P.A., Garza-Veloz I., Perez-Favila A., Cid-Baez M.A., Flores-Morales V., Martinez-Fierro M.L., (2019). Diabetic Foot Ulcers: Current Advances in Antimicrobial Therapies and Emerging Treatments. *Antibiotics*, 8, 193.

S

Sahly H., Ancken H., Benedi V.J., Forestier C., Fussing V., Hansen D.S, Ofek I. & Podshun R.,(2004). Impairment of Respiratory Burst in polymorphonuclear Leukocytes by Extended-Spectrum Betalactamase-Producing Strains of *Klebsiella pneumoniae*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 23 : 20-26.

Sanders, M.E., Klaenhammer, T.R., (1981). Evidence for plasmid linkage of restriction and modification in *Streptococcus cremoris* KH±, *Applied and Environmental Microbiology*. 42 (6), 944-950.

Sarmi M.P., et Cheymer V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier, 2 -10.

SOMIPEV., (2017)Société marocaine d'infectiologie pédiatrique et de vaccinologie .Le guide pratique des bactéries pathogènes. Pp : 20-50.

Stone P.W., Gupta A., Loughrey R.N., Della-Latta P.H., Cimiotti R.N., Larson E., Rubenstein D. & Saiman L., (2003). Attributable Coast And Length Of Stay Of An Extended-Spectrum Beta-LactamaseProducing *Klebsiella pneumoniae* Outbreak In A Neonatal Intensive Care Unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 24 : 601- 606.

V

vanderijst J.F, Debiève F, Doucet F,Emonts P, Haumont S, Hubinont C, Kirkpatrick C, Philips J.C, Pintiaux A, Rousseau P,Senterre G, Vandeleene B et Féry F.,(2012). Stratégie de dépistage et critères diagnostiques du diabète gestationnel : Propositions du GGOLFB. *Digital Access To Libraries*. 67(4) : 179-185.

W

Walker, J. B., Kenneth, J., Treutlein, J., & Wink, M., (2004).Salvia (lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systmatics, radiation, and ecological pecializations of Salvia and tribe Mentheae. *American Journal of Botany* , 91 (7), Pp. 1115–1125.

Walou M ., Edem K., Agbeko K., Abago B., Toyi T., Razak M., (2018). Pied diabétique : aspects épidémiologique, diagnostique, thérapeutique et évolutif à la Clinique Médico-chirurgicale du CHU Sylvanus Olympio de Lomé. *Pan African Medical Journal*. ISSN : 1937- 8688.

Wu, F.-L., Juang, J.-H. & Yeh, M. C., (2011). The dilemma of diabetic patients living with hypoglycaemia. *Journal of Clinical Nursing*, 20(15/16), 2277-2285.

Y

Yamashita, S.K., Louie, M., Simor, A.E., Rachlis, A., (2000). Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit. *Can J Infect Dis.* 11, 107-111.

Z

Zeba, B., (2005). Overview of β -lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African journal of biotechnology*, 4 (13), 1559-156 .

Zhang P., Lu J., Jing Y., Tang S., Zhu D., Bi Y., (2017). Global epidemiology of diabetic foot ulceration: A systematic review and meta-analysis (dagger). *Ann. Med*, 49 : 106-116.

Les références Web :

Web1 : La résistance aux antibiotiques

<https://www.frm.org/upload/publications/dossier/antibiotiques/resistance-antibiotiques.png>

Web 2 :L'origine de la résistance aux antibiotiques

https://resources.manuelnumeriquemax.belin.education/03580412_svt1/03580412_svt1_ch16/Imag es/03580412_svt1_ch16-277-i0006.jpg

Web3 : Mode d'action des antibiotiques

<https://planet-vie.ens.fr/sites/default/files/2019-12/Figure%201%20-%20Cibles%20bact%C3%A9riennes%20et%20m%C3%A9canisme%20de%20r%C3%A9sistance%20aux%20antibiotiques.png>

Web 4 :Feuilles de *salvia officinalis* séchée (12/05/2021)

https://l.facebook.com/l.php?u=https%3a%2f%2fileauxepices.com%2fherbes-et-aromates%2f216-sauge.html%3ffbid%3diwar1vis3qc5dx6brxnsrp6qhkgo_hqebdx7z25dp0mfg5gphxb67nrzs_vds&h=at2rwgr70d5rw7zrg0aytbh9kcwuj28kcyxhnlvkqc_gk2nixif6r-lufva0oxdv1kjm0aamorjzlnvqwhjqmbx3zsqdg5to-4bf_lnkehfyeb2jv39t_vxqluexae-fms8jhuaxl5ocjwu

Web 5 : Détermination des diamètres des zones d'inhibition

http://www.ville-ge.ch/cjb/enfleur/nicotiana_tabacum.php

Web 6 : Détermination de la CMI et CMB

<https://images.app.goo.gl/VaAj4kLimkWwjiJ88>

Résumé

Résumé :

Le diabète constitue un problème majeur de santé publique de par sa fréquence et sa gravité. En effet, cette épidémie silencieuse ne cesse de se propager dans le monde. Elle touche les quatre coins de la planète et aucun pays ne semble être épargné par cette infection.

L'un des problèmes majeurs causés par cette maladie est l'infection bactérienne du pied diabétique rendue grave suite à la résistance de ces dernières aux antibiotiques. Afin de remédier au problème de la résistance, les industries pharmaceutiques s'intéressent aux nouvelles molécules d'origine naturelle.

Dans ce travail nous avons isolé un total de 9 souches bactériennes à partir de prélèvements de pus pris à partir du pied diabétique de patients hospitalisés au niveau de l'hôpital Ibn Rochd-Souk Ahras. Après identification des souches cliniques, nous avons trouvé les espèces suivantes : *S. aureus*, *Streptococcus sp.*, *E. coli* et *K. pneumoniae*. Sur ces souches isolées, nous avons testé l'activité antibactérienne de l'extrait huileux et l'huile essentielle de *Salvia officinalis* ou la sauge en mesurant les diamètres des zones d'inhibition et en déterminant la CMI.

En ce qui concerne l'extrait huileux, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 12 et 20 mm et les CMI entre 15,62 et 62,5 µg/ml. La plupart des souches de *S. aureus* et *K. pneumoniae* se sont montrées résistantes. Le meilleur résultat a été obtenu avec la souche de *Streptococcus sp.*

De meilleurs résultats ont été obtenus avec l'huile essentielle où les diamètres des zones d'inhibition varient entre 12 et 17 mm et les CMI entre 15,62 et 62,5 µg/ml. Seules deux souches de *S. aureus* et une souche de *K. pneumoniae* se sont montrées résistantes.

Les extraits de cette plante présentent un espoir thérapeutique pour ce genre d'infection surtout dans le cas de certaines souches bactériennes.

Mots clés : Activité antibactérienne, Diabète, Pied diabétique, *Salvia officinalis*, Souches cliniques.

Abstract

Diabetes is a major public health problem due to its frequency and severity. Indeed, this silent epidemic does not cease to spread in the world.

It affects the four corners of the planet and no country seems to be spared from this condition.

One of the major problems caused by this disease is the bacterial infection of the diabetic foot, which has become serious due to the resistance of these bacteria to antibiotics.

In order to remedy the problem of resistance, the pharmaceutical industry is interested in new molecules of natural origin.

In this work we isolated a total of 9 bacterial strains from pus samples taken from the diabetic foot of patients hospitalized at the Ibn Rochd-Souk Ahras Hospital.

After identification of clinical strains, we found the following species: *S. aureus*, *Streptococcus sp.*, *E. coli* and *K. pneumoniae*.

On these isolated strains, we tested the antibacterial activity of the oily extract and the essential oil of *Salvia officinalis* or sage by measuring the diameters of inhibition and by determining the MIC.

For the oil extract, the diameters of inhibition ranged from 12 to 20 mm and the MICs from 15.62 to 62.5 µg/ml.

Most of the *S. aureus* and *K. pneumoniae* strains were resistant. The best result was obtained with the *Streptococcus sp.* strain.

Better results were obtained with essential oil where the diameters of the inhibition varied between 12 and 17 mm and the MIC between 15.62 and 62.5 µg/ml.

Only two strains of *S. aureus* and one strain of *K. pneumoniae* were resistant.

The extracts of this plant present a therapeutic hope for this type of infection, especially in the case of certain bacterial strains.

Key words : Antibacterial activity, Clinical strains, Diabetes, Diabetic foot, *Salvia officinalis*,

ملخص

مرض السكري يشكل مشكلة كبيرة في الصحة العمومية لخطورته، وكذا هذا الوباء الصامت لا يتوقف عن الانتشار في العالم، إذ أنه يمس كل الكرة الأرضية، ولا يمكن لأي بلد أن ينفذ هذا الإلتهاب.

من المشاكل الرئيسية التي يسببها هذا المرض العدوى البكتيرية للقدم السكرية التي أصبحت خطيرة بسبب مقاومة هذه الأخيرة للمضادات الحيوية. ، يصعب إهتمام شركات صناعات الأدوية بالبحث عن الجزيئات الجديدة من أصل طبيعي.

في هذا العمل ، قمنا بعزل مجموعه 9 سلالات بكتيرية من عينات القيح المأخوذة من القدم السكرية لمرضى تم نقلهم إلى مستشفى ابن رشد- سوق أهراس. بعد التعرف على السلالات السريرية وجدنا الأنواع التالية: *S. aureus* و *Streptococcus sp*. و *E. coli* و *K. pneumoniae*. على هذه السلالات المعزولة ، قمنا باختبار النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الزيتي والزيت العطري لـ *Salvia officinalis* أو المرمية ، مع تحديد أقطار التثبيط وتحديد *CMI*.

فيما يتعلق بالمستخلص الزيتي ، تتفاوت أقطار مناطق التثبيط بين 12 و 20 مم و *CMI* بين 15.62 و 62.5 ميكروغرام / مل. وتبين أن معظم سلالات بكتيريا *S. aureus* و *K. Pneumoniae* مقاومة. تم الحصول على أفضل نتيجة مع سلالة *Streptococcus sp*.

تم الحصول على أفضل النتائج مع الزيت الأساسي حيث تراوحت أقطار مناطق التثبيط بين 12 و 17 ملم و *CMI* بين 15.62 و 62.5 ميكروغرام / مل.

مستخلصات هذا النبات تقدم الأمل العلاجي لهذا النوع من العدوى ، خاصة في حالة بعض السلالات البكتيرية.

. الكلمات المفتاحية: السلالات السريرية، القدم السكرية،النشاط المضاد للبكتيريا، مرض السكري ، نبتة المرمية