

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Publique
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche
Scientifique
جامعة 20 أوت 1955-سككدة
Université 20 Aout 1955-Skikda



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
Spécialité: Microbiologie Appliquée
Intitulé :

**Valorisation du Gattilier ; Activité
antibactérienne et antifongique**

Présenté Par:

- Bouchebtoul Abir
- Bouhadja Hind
- Boulassel Yasmine

Membrede Jury:

Pr.Slimani Souheila (Pr)	Président	Université 20 Août1955–Skikda
Dr.Becheker Imen (MCA)	Examinatrice	Université 20 Août1955–Skikda
Dr. Gueddah Doria (MCB)	Promoteur	Université 20 Août1955–Skikda

Année universitaire 2022/2023



Remerciements

Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.

Au terme de ce travail nous adressons tout d'abord nos sincères remerciements au Pr. Slimani Souheila, présidente du jury, et professeur à l'université 20 aout 1955, Skikda.

Dr Becheker Imen MCA à l'université 20 aout 1955, Skikda - pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Notre encadreur Dr Gueddah Doria, MCB à l'université 20 aout 1955, Skikda d'avoir accepté de diriger ce travail, pour ses conseils et ses orientations.

Nous adressons nos sincères remerciements à M^{me} Maachia Leila qui n'a cessé de nous aider par ces conseils et qui a accepté de répondre à nos questions durant notre recherche, et également à tous le personnel du laboratoire de microbiologie de l'université 20 aout 1955 Skikda.



Dédicace :

*Je ne peux m'empêcher de remercier le maître des cieux et de la terre, le tout puissant
ALLAH de m'avoir permis la réalisation de ce projet de fin d'étude.*

*Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents à qui je dois tous, je les remercie
à leurs encouragements, aides et leurs sacrifices qu'ils ont fait pour moi.*

A

*Mes chères sœurs Hana et Haifa pour le soutien que vous m'avez apportées chacune à
sa manière.*

A

*Mes grands-parents, mes tantes surtout Sina et Mami, mes oncles et à toute la famille.
A toute personne qui a contribué à la réalisation de ce manuscrit de près ou de loin....*

Hind.

Dédicace :

A mes Parents ; Pour tous les sacrifices que vous avez consentis à mon égard afin que je puisse mener à bien mes études. Vous avez su m'inculquer le sens du devoir, de la responsabilité, de la dignité, de l'honneur et de l'humilité. Je ne pourrais jamais vous rendre ce que vous avez fait pour moi, mais j'espère seulement que vous trouverez dans ce modeste travail, un réel motif de satisfaction.

A l'homme, mon précieux offre du Bon Dieu Allah, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher papa AZZEDINE

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse dont l'espoir repose sur la réussite de ses enfants : mon adorable maman FATIHA.

A mes adorables sœurs HANA LINA et SIRINE qui n'ont pas cessé de me encourager et soutenir tout le long des mes études. Que Dieu Allah les protège et leurs offre la santé et le bonheur.

A ma grand-mère MAMI qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille. Que Dieu Allah lui donne une longue et joyeuse vie pleine de bonne santé.

A mes meilleurs amis qui je les trouve toujours derrière nous surtout dans les périodes les plus difficiles (rayane, hanane, manal, abir, hind, islem,). Je vous aime tellement.

Et A toutes les mains qui m'ont été tendue

Yasmine.

Dédicace :

*Merci d'abord à Dieu de m'avoir aidé à compléter ce mémoire
Je dédie ce travail à ma mère et mon père pour leur soutien tout au long de cette
période*

A

Mes sœurs KENZA, SARA et Wafa merci pour leur soutien

A

*Mes chères nièces SILA, RANIM ET ASHAR
Mes cousines YOUSRA ET AYA merci pour votre aide toute au long de cette
période*

A

Mon amie MERIEM

Enfin à moi-même pour être forte pendant cette période

Abir

SOMMAIRE.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Liste des abréviations

Résumé.

Introduction _____ p1

Chapitre I: Synthèse bibliographique.

1. Revue sur le gattilier _____ p3

1.1. Description botanique du gattilier _____ p4

1.2. Etymologie _____ p5

1.3. Origine, habitat et culture _____ p5

1.4. Historique de l'utilisation du gattilier en phytothérapie _____ p6

1.5. Propriétés médicinales du gattilier _____ p6

1.5.1. Le gattilier et le fibrome _____ p7

1.5.1.1. Le fibrome _____ p7

1.5.1.2. Le fonctionnement du gattilier sur le fibrome _____ p7

1.5.2. La fertilité _____ p7

1.5.3. Bénéfices contre le syndrome prémenstruel _____ p7

1.5.4. Effets secondaires et contre-indications _____ p8

2. Composition du gattilier _____ p8

2.1. Les terpènes _____ p8

2.1.1. Huile essentielle _____ p8

2.1.2. Iridoïdes _____ p9

2.1.3. Diterpènes _____ p9

2.2. Les composés phénoliques _____ p10

2.2.1. Les acides phénols _____ p10

2.2.2. Les flavonoïdes _____ p10

2.2.3. Les tanins _____ p11

2.2.4. Les lignanes _____ p11

3-Utilisation et posologie du gattilier _____ p11

4-l'extraction végétales _____ p12

5. Les micro-organismes pathogènes _____ p13

5.1. Le micro-organisme pathogène _____ p13

5.2. Les microorganismes et les infections _____ p14

5.2.1. Bactéries Gram négatif	p14
5.2.1.1. <i>Klebsiella Pneumoniae</i>	p14
5.2.1.2. <i>Escherichia coli</i>	p14
5.2.2. Bactéries Gram positif	p14
5.2.2.1. <i>Streptocoque</i>	p14
5.2.2.2. <i>Staphylococcus Aureus</i>	p14
5.2.3. Les levures	p15
5.2.3.1. <i>Candida Albicans</i>	p15
6. Les antibiotiques	p16
6.1 Les familles d'antibiotique	p16
6.1.1 Les bêta-lactamines	p16
6.1.2. Les cyclines	p16
6.1.3. Les aminosides	p16
6.1.4. Les macrolides	p17
6.1.5. Les quinolones	p17
6.2. Mode d'action	p17
6.3. La résistance à l'antibiotique	p17
6.3.1. Mécanismes de résistance	p18
6.4. L'antibactérien	p18
6.4.1. L'activité antibactérienne	p18
6.5. L'antifongique	p19

Chapitre II : matériel et méthodes

1. Matériel végétal et échantillonnage	p20
2. Extraction des composés phénoliques.	p20
2.1. Macération dans le méthanol aqueux (extraction solide/liquide)	p20
2.2. Le principe de l'évaporateur rotatif	p21
2.3. Le rendement d'extraction	p22

3. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des différentes concentrations de <i>Vitex agnus castus L</i>	p23
3.1..Matériel bactérien	p23
3.2. Milieux de culture	p23
3.3. Préparation des dilutions méthanolique:	p24
4. Antibiotique et antifongique comme contrôle positif	p24
5. Activité antibactérienne	p24
5.1. Le ré-isolement (repiquage) des souches bactériennes	p24
5.2. Identification des souches	p25
5.3. Préparation de l'inoculum	p26
5.4. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)	p26
5.4.1. Préparation des disques d'aromatogramme	p26
5.4.2. Incubation et lecture	p27
6. Activité antifongique	p27

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Extraction des composés phénolique	p29
2. Identification des souches bactériennes et fongique utilisé	p29
2.1.Observation macroscopique	p31
2.2.Observation microscopique	p31
2.3.Coloration de gram	p32
3. Evaluation et discussion de l'activité antibactérienne et antifongique	p33
3.1. Les bactéries à Gram négatif	p33
3.2. Les bactéries à Gram positif	p35
3.3. <i>Candida albicans</i>	p37
Conclusion	p40

Liste Des Figures

Figure n° 01 :	Allure générale de <i>Vitex agnus castus L.</i>	P4
Figure n° 02 :	Feuilles de <i>Vitex agnus castus L.</i>	P5
Figure n° 03 :	Fleurs de <i>Vitex agnus castus L.</i>	P5
Figure n° 04 :	Graines de <i>Vitex agnus castus L.</i>	P5
Figure n° 05 :	L'extrait obtenu après élimination du solvant pour le calcul du rendement d'extraction .	P6
Figure n° 06 :	Huile essentiel du gattilier sauvage	P10
Figure n° 07 :	Les graines de <i>Vitex agnus castus L.</i>	P12
Figure n° 08 :	Processus d'une extraction végétale.	P13
Figure n° 09 :	Comparaison entre bactérie gram + et bactérie gram – sous microscope optique.	P16
Figure n° 10 :	Mode d'action des antibiotiques.	P18
Figure n° 11 :	Feuilles de la plante <i>Vitex agnus castus.</i>	P21
Figure n° 12 :	Macération de la matière végétale dans le méthanol aqueux.	P22
Figure n° 13 :	Filtration de la préparation Gattilier + méthanol.	P22
Figure n° 14 :	L'évaporateur rotatif RE-100 PRO.	P23
Figure n° 15 :	Les solutions filles.	P23
Figure n° 16 :	L'extrait obtenu après élimination du solvant pour le calcul du rendement d'extraction.	P25
Figure n° 17 :	<i>Klebsiella pneumoniae</i> après 24H d'incubation.	P26
Figure n° 18 :	<i>Escherichia Coli</i> après 24H d'incubation.	P26
Figure n° 19 :	<i>Streptococcus sp</i> après 24H d'incubation.	P26
Figure n° 20 :	<i>Staphylococcus Aureus</i> après 24H d'incubation.	P26
Figure n° 21 :	Préparation des inocula.	P27
Figure n° 22 :	Dépôt des disques des dilutions.	P27
Figure n° 23:	Aromatogramme d'extrait de sur la souche bactérienne de <i>Streptococcs sp.</i>	P28
Figure n° 24 :	Aromatogramme d'extrait de sur la souche bactérienne de <i>Klebsiella pneumoniae.</i>	P28

Figure n° 25 :	Aromatogramme d'extrait de sur la souche bactérienne de <i>Escherichia coli</i> .	P28
Figure n° 26 :	Aromatogramme d'extrait de sur la souche bactérienne de <i>Staphylococcus Aureus</i> .	P28
Figure n° 27 :	<i>Candida albicans</i> après 48H d'incubation.	P29
Figure n° 28 :	Préparation de l'inoculum de <i>Candida albicans</i> .	P29
Figure n° 29 :	Aromatogramme d'extrait de sur la souche fongique de <i>Candida albicans</i> .	P29
Figure n° 30 :	L'extrait de <i>Vitex agnus castus L.</i>	P30
Figure n° 31 :	<i>Escherichia coli</i> sous microscope*100.	P32
Figure n° 32 :	<i>Klebsiella pneumoniae</i> sous microscope *100.	P32
Figure n° 33 :	<i>Streptococcus sp</i> sous microscope *100.	P33
Figure n° 34 :	<i>Staphylococcus Aureus</i> sous microscope *100.	P33
Figure n° 35 :	<i>Candida albicans</i> sous microscope *100.	P33
Figure n° 36 :	Halos d'inhibition de l'activité antibactérienne d'extrait sur la bactérie à Gram positif <i>Streptococcus sp</i> .	P35
Figure n° 37 :	Halos d'inhibition de l'activité antibactérienne d'extrait sur la bactérie à Gram positif <i>Staphylococcus aureus</i> .	P35
Figure n° 38 :	halos d'inhibition de l'activité antibactérienne d'extrait sur la bactérie à Gram négatif <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	P37
Figure n° 39 :	Halos d'inhibition de l'activité antibactérienne d'extrait sur la bactérie à Gram négatif <i>Escherichia coli</i> .	P37
Figure n° 40 :	Halos d'inhibition de l'activité antibactérienne d'extrait sur la bactérie à Gram positif <i>klebsiella pneumoniae</i> .	P38
Figure n°41 :	Diagrammes représentant les diamètres des halos d'inhibitions après 24 h en mm de <i>Vitex agnus castus L</i> sur les microorganismes.	P39

Liste des tableaux.

Tableau	Titre des tableaux	P
Tableau n°1	Système intégré de classification de <i>Vitex agnus castus</i>	P3
Tableau n°2	Classification de <i>Vitex agnus castus</i> selon l'APG	P4
Tableau n°3	La teneur des flavonoïdes selon la partie de la plante	P12
Tableau n°4	Les souches utilisées	P24
Tableau n°5	Observation macroscopique des souches bactérienne et fongique utilisé	P30
Tableau n°6	Observation microscopique des souches bactérienne et fongique utilisé	P31
Tableau n°7	Observation microscopique de coloration de gram	P31
Tableau n°8	Rendement en pourcentage de l'extraction	P32
Tableau n°9	Diamètre des halos d'inhibition de l'activité antibactérienne d'extrait sur les bactéries à Gram négatif	P34
Tableau n°10	Diamètre des halos d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits sur les bactéries à Gram positif	P35
Tableau n°11	Diamètre en mm des halos d'inhibition de l'activité antifongique d'extraits sur <i>Candida albicans</i> .	P37

Liste des abréviations

APG : l'Angiosperme Phylogénie Groupe

SP : syndrome prémenstruel

IR : Infrarouge

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

THS : Traitement hormonal substitutif

ORL : oto-rhino-laryngologie

RE: Rotary Evaporator

Pro : professionnel

R : Rendement

Mext : Masse de l'extrait

Méch : Masse de l'échantillon

MH : Mueller-Hinton

na : non active

B : boîte ER : Estrogène Récepteur

APG : l'Angiosperme Phylogénie Groupe

SP : syndrome prémenstruel

IR : Infrarouge

ER : Estrogène récepteurs

CMI : Concentration minimale inhibitrice

C : Concentration du microorganisme

Résumé

Ce travail s'inscrit dans l'objectif d'une évaluation de l'activité antifongique et antibactérienne *in vitro* de l'extrait méthanolique des feuilles de *Vitex agnus castus L.*

Au cours de notre travail, nous avons tenté d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique de cet extrait contre de nombreux microorganismes pathogènes en utilisant la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) qui permet de tester la sensibilité ou la résistance des microorganismes à l'extrait par contact direct.

L'extrait de *Vitex agnus castus L.*, a été testé contre quatre bactéries pathogènes humaines: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*, et une levure *Candida albicans*. Les résultats obtenus de cet extrait naturel d'origine végétale ont montré une activité inhibitrice maximale observée chez *Streptococcus sp* *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, alors qu'il ne présentait aucune activité sur *Staphylococcus aureus*. Nos résultats révèlent également une absence totale d'une activité antifongique de l'extrait de *Vitex agnus castus L.* contre *Candida albicans*.

Mots clés : *Vitex agnus castus L.*, activité antifongique, activité antibactérienne, extrait méthanolique, composés phénoliques.

Abstract

This work is part of the objective of an evaluation of the antifungal and antibacterial activity in vitro of the methanolic extract of the leaves of *Vitex agnus castus L.*

During our work, we tried to evaluate the antibacterial and antifungal activity of this extract against many pathogenic microorganisms was also studied using the method of diffusion on disc (aromatogram) which makes it possible to test the sensitivity or the resistance microorganisms to the extract by direct contact.

Vitex agnus castus L., has been tested against four human pathogenic bacteria: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*, and *Candida albicans* yeast. The results obtained from this natural extract of plant origin showed that, for antibacterial activity, our results showed maximum inhibitory activity was observed in *Streptococcus sp*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* but it showed no activity against *Staphylococcus aureus*. Our results reveal a total absence of antifungal activity of *Vitex agnus castus L.* extract with *Candida albicans*.

Key words: *Vitex agnus castus L.*, antifungal activity, antibacterial activity, methanolic extract, phenolic compounds.

ملخص:

هذا العمل هو جزء من هدف تقييم الفعالية المضادة للفطريات والبكتيريا في المختبر للمستخلص الميثانولي لأوراق نبات *Vitex agnus castus L*.

خلال عملنا حاولنا تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات لهذا المستخلص ضد العديد من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض كما تمت دراسته باستخدام طريقة الانتشار على القرص (Aromatogram) مما يجعل من الممكن اختبار الحساسية أو مقاومة الكائنات الحية الدقيقة للمستخلص مباشرة اتصال.

تم اختبار *Vitex agnus castus L* ضد أربعة أنواع من البكتيريا المسببة للأمراض البشرية: *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* و *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus sp* و *Candida albicans*. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من هذا المستخلص الطبيعي من أصل نباتي، بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا، أن نتائجنا أظهرت أقصى نشاط مثبط في *Streptococcus sp* ، *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* لكنها لم تظهر أي نشاط ضد *Staphylococcus aureus*. تكشف نتائجنا عن الغياب التام للنشاط المضاد للفطريات لمستخلص *Vitex agnus castus L* مع الفطريات.

الكلمات المفتاحية: *Vitex agnus castus L* ، نشاط مضاد للفطريات ، نشاط مضاد للجراثيم ، خلاصة ميثانولية ، مركبات فينولية.

INTRODUCTION

Depuis toujours, il y a eu une relation étroite entre l'homme et la nature, qui l'a inspiré dans de nombreux domaines, y compris l'art et la nourriture, où il a consommé tout ce qui est délicieux et appétissant.

En médecine également, des remèdes naturels ont été extraits de la nature, en particulier des plantes, connus sous le nom de phytothérapie, qui a été particulièrement reconnue par les anciens arabes et s'est récemment répandue chez les occidentaux. La phytothérapie utilise des plantes médicinales dans leur totalité ou certaines parties de la plante dans des buts thérapeutiques. **(Falch, 2013).**

Les extraits végétaux peuvent être utilisés individuellement ou combinés les uns aux autres pour une efficacité maximale. Cette médecine est basée sur des ingrédients naturels qui peuvent aider à améliorer la santé du corps et parfois la santé mentale, avec ou sans produits chimiques. Elle est utilisée pour traiter diverses affections, telles que les maux de gorge, les maux de tête, le diabète, l'obésité, la dépression...etc. Cependant, ces extraits doivent être utilisés sous la supervision d'un médecin, d'un pharmacien ou d'un herboriste qualifié, car une utilisation incontrôlée peut avoir des conséquences graves.

Certains extraits servent à lutter contre certaines maladies et précisément sur les microorganismes qui causent ces maladies. Les microorganismes sont divisés en plusieurs groupes, il y a les bactéries, les champignons, les virus...etc. Dans notre étude nous nous sommes concentrés sur les levures (*Candida albicans*) et les bactéries, ces derniers sont divisés en deux groupes les bactéries Gram négatifs (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*...etc.) et les bactéries Gram positifs (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp* ...etc.)

En Algérie, la phytothérapie traditionnelle représente une importance particulière dans le quotidien de la population. Mondialement, les espèces de la famille de Verbénacée sont bien connues par leurs utilisations dans les systèmes médicaux traditionnels à cause de leurs propriétés phytochimiques et bioactifs ayant d'importants effets pharmacologiques **(Rahmatullah, (2011) (in Belalem et al., 2022).**

Ce travail a pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait méthanolique de *Vitex agnus castus L* sur quelques souches bactériennes et fongiques.

Dans ce cadre, notre étude s'est basée sur l'extrait méthanolique de *Vitex agnus castus L.*, spécifiquement son effet antibactérien et antifongique pour quelques bactéries et levures.

Notre mémoire s'articule autour de trois chapitres ;

- Le premier concerne une étude bibliographique
- Le second présente le matériel et méthodes utilisés pour la réalisation de notre travail
- Le dernier expose les résultats obtenus, leur interprétation et discussion

CHAPITRE

I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Revue sur le gattilier :

Le gattilier est un arbuste à fleurs bleues donnant des baies rouges et jaunes, qui poussent en Grèce et en Italie. Ce sont des fruits à l'arôme poivré qui sont utilisés pour leurs vertus médicinales. Ce fruit qui rappelle le poivre autant par sa forme que par sa saveur, est récolté au début de l'automne (Lafauri, 2023).

La classification exacte de *Vitex agnus castus* diffère en fonction du référentiel utilisé (Cronquist, 1919– 1992), botaniste américain spécialiste des familles de plantes dicotylédones, a proposé une classification basée sur des critères morphologiques, anatomiques et chimiques (Masure, 2018) selon la classification « An Integrated System of Classification of Flowering Plants (1981) » (Masure, 2018):

Tableau n°1 : système intégré de classification de *Vitex agnus castus* L. (Cronquist, (1981)(in masure, 2018).

Règne	Plantae (=Végétaux)
Sous Règne	Tracheobionta (=Végétaux Vasculaires)
Embranchement	Magnoliophyta (=Spermaphytes)
Sous Embranchement	Magnoliophytina (=Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida
Sous Classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Verbenaceae
genre	<i>Vitex</i> L.
Espèce	<i>Vitex agnus-castus</i> L.

Cependant, la classification d'Arthur Cronquist est remise en question depuis 1998 par la nouvelle classification APG ou classification phylogénétique. Ce groupe a par la suite publié d'autres classifications comme APGII (2003) puis APGIII (2009) et enfin APGIV (2016).

Contrairement à la classification de Cronquist, la classification phylogénétique repose sur les caractères moléculaires, principalement sur les séquences d'acides aminés des protéines. Ainsi, on compare les séquences homologues pour déterminer les divergences entre les espèces (Dupont Guignard, (2007) (in Masure, 2018).

Selon l'APGIII:

Tableau n°2 : classification de *Vitex agnus castus* selon l'APGIII.
(DupontGuignard, (2007) (in Masure, 2018).

Règne	Archéplastides
Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Noyau Des Dicotylédones vraies
Clade	Astériidées
Clade	Lamiidées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Sous Famille	Viticoidées
Genre	Vitex
Espèce	agnus-castus

1.1. Description botanique du gattilier :

Le gattilier est un buisson qui peut atteindre 1 à 2 mètre (s) de hauteur. Ses rameaux velus et souples ont une coloration grise-blanche. Longues et en forme de fer de lance, les feuilles du gattilier sont dépourvues de poils et affichent une couleur vert foncé sur le dessus.

Sur le dessous, les feuilles ont une coloration grise-blanche et sont recouvertes d'un duvet.

Le gattilier développe de petites fleurs bleues violacées réunies en épis. Celles-ci laissent ensuite leur place à des fruits : des drupes sphériques de couleur noire-rouge. Ces baies ont une odeur et une saveur poivrées.

En phytothérapie, ce sont essentiellement les baies du gattilier qui sont utilisées. Elles sont séchées avant d'être broyées. (<https://www.dieti-natura.com/plantes-actifs/gattilier.html>).

Différents extraits peuvent alors être obtenus et utilisés pour la fabrication de préparations spécifiques dont des compléments alimentaires de gattilier.



Figure n°1 : Allure générale de *Vitex agnus castus* L. (Dunning, 2016).

Les feuilles présentées (Fig.2) sont palmées et se composent de folioles vertes, linéaires, lancéolées et dentées (Quezel et Santa, 1963 in Fekrar et Sidi Ahmed, 2022).



Figure n°2: Feuilles de *Vitex agnus castus* L. (Gruffat, 2020).

Vitex agnus castus L. fleurit en août et septembre. Ses fleurs sont petites, de couleur bleues violacée, regroupées en une inflorescence de type épi (Ouali, 2016 in Fekrar et Sidi Ahmed, 2022).



Figure n°3 : Fleurs de *Vitex agnus castus* L. (Ruas, 2012).



Figure n°4 : Graines de *Vitex agnus castus* L. (Courtoy, 2013).

Les fruits sont globuleux et ressemblent à des graines de poivre, dures, à la peau noire et jaunâtre à l'intérieur (fig.n°4), à moitié couvert par leur calices verts et contenant quatre graines (Aissaoui, (2010) (in Fekrar et Sidi Ahmed, 2022).

1.2. Etymologie :

Vitex, du latin «Vitis» («vigne») qui vient lui-même de «vieo» («lier»), désignait l'emploi des rameaux souples pour tresser des ouvrages de vannerie .Quant à «Agnus castus», plusieurs sources, d'origine latine ou grecque, sont retrouvées. Dans les deux cas, ils signifient « pureté ou chasteté », en référence aux soi-disant propriétés de la plante, pour que« celles ou ceux qui veulent rester chastes dorment sur des jonchées de ces rameaux » (Allais,(2008)(in Masure, 2018). Il est ainsi rapporté que lors des huit jours de fêtes de fertilité en l'honneur de la déesse Déméter, les Athéniennes en utilisaient pour se parer afin de préserver leur chasteté.

Egalement, le sol des lieux sacrés en était recouvert pour que les dévots ne soient pas distraits dans leurs prières par les plaisirs de la chair. C'est pour cette raison que cette plante peut avoir d'autres noms comme «Agneau chaste »mais aussi « poivre sauvage », « Petit poivre », « Herbe au poivre », « Fauxpoivrier », « arbre au poivre »ou « poivre de moine », ces derniers mâchant ses fruits à la saveur piquante pour atténuer leur libido. (Litré, (1847 à 1865) (in Masure, 2018).



Figure n°5 : La plante de *Vitex agnus castus* L. (Macheteau ,2021).

1.3 Origine, habitat et culture :

Le gattilier a une longue histoire : il fut remarqué et utilisé dès l'Antiquité. A cette époque, il représentait un véritable symbole de chasteté. La légende raconte que les religieux et les religieuses utilisaient le gattilier pour les protéger des plaisirs de la chair, ce qui a d'ailleurs valu à cette plante son surnom d'agneau chaste et son nom scientifique *Vitex agnus-castus*.

Cette symbolique a traversé les siècles puisqu'au Moyen-Age, il se dit que les moines mâchaient les fruits de gattilier pour réprimer leurs désirs sexuels. Ayant un goût légèrement piquant,

les baies de gattilier furent alors nommées poivre des moines. Toutefois, ce n'est pas la seule raison pour laquelle le gattilier a connu un grand succès.

Durant la Grèce antique, cette plante fut recommandée à des fins médicinales par Hippocrate en raison de ses multiples atouts dans la vie d'une femme. Le célèbre médecin grec préconisait son usage pour réguler les menstruations (les règles), favoriser l'expulsion du placenta après l'accouchement et stimuler la lactation.

Aujourd'hui, certains usages traditionnels du gattilier perdurent. Les recherches ont notamment permis de mettre en évidence son rôle de régulateur hormonal et ses bienfaits pour lutter contre les troubles hormonaux : syndrome prémenstruel, troubles des règles...etc (<https://ww.dietinatura.com/plantes-actifs/gattilier.htm>).

1.4. Historique de l'utilisation du gattilier :

Les vertus médicinales de la baie de gattilier sont connues depuis plus de 2 000 ans. Dioscoride, illustre médecin de la Grèce antique, mentionne qu'on faisait, avec les graines présentes dans la baie, une boisson destinée à calmer la libido. On dit qu'au Moyen Âge, les moines du sud de l'Europe consommaient les baies afin de pouvoir mieux supporter les affres du célibat. D'où son appellation populaire de « poivre des moines ».

Cette propriété qui, soit dit en passant, n'a pas été démontrée scientifiquement, semble avoir déterminé le nom de l'arbuste : *agnus castus* signifie « agneau chaste ». Quant au mot *Vitex*, il viendrait de *vitilium* qui signifie « tressage », parce qu'on utilisait les branches, à la fois souples et résistantes, des divers arbustes de ce genre botanique pour fabriquer des clôtures en clayonnage.

En 1943, une firme allemande mettait au point un extrait de baies de gattilier standardisé en agnuside, l'un des composés caractéristiques du *Vitex*. Dans les années 1950, cet extrait fut adopté en Europe pour le traitement de la mastalgie. (**PasseportSanté.L ,2021**).

1.5. Propriétés médicinales du gattilier :

Après des années d'investigation, les composants du gattilier sont maintenant bien compris. Certains ont un effet pharmacologique plus important que d'autre. Alors que l'ignorance sur la relation exacte entre l'ingrédient et son effet est toujours importante. S'il semble depuis longtemps que cette plante est efficace pour traiter divers troubles gynécologiques, comme le syndrome prémenstruel, on ne connaît toujours pas très bien le mécanisme précis de son action. De plus, le syndrome prémenstruel est encore mal compris d'un point de vue physiologique, c'est pourquoi il est difficile de développer un traitement efficace. En conséquence, des recherches ont été menées pour définir le but spécifique de *Vitex agnus castus L.* et pour avoir une alternative pratique à la médecine allopathique (**Masure, 2018**).

1.5.1. Le gattilier et le fibrome :

1.5.1.1. Le Fibrome :

D'après **Martinat *et al.*, (2018)**, les fibromes utérins sont la maladie la plus courante chez les femmes. Il est constitué d'une cellule musculaire utérine qui commence à se développer anormalement en raison de plusieurs facteurs, principalement des hormones. Elle peut passer inaperçue lors d'un examen gynécologique, être découverte accidentellement et confirmée par une échographie. Il n'est traité, avec des médicaments ou une intervention chirurgicale, que lorsqu'il est gênant.

A la base des études bibliographiques, le docteur Georges Van Snick a sélectionné plusieurs plantes pour le diagnostic, parmi elles on a le gattilier.

1.5.1.2. Le fonctionnement du gattilier sur le fibrome :

Le gattilier (*Vitex agnus castus L*) stimule la sécrétion de progestérone en diminuant la production des œstrogènes, ce qui favorise la diminution des fibromes. Cette combinaison existe dans le complément Femiconf, des Laboratoires SP. À utiliser avec prudence ! Comme ces plantes ont une action hormonale, on ne dépassera pas deux mois de prise en automédication (**Martinat *et al.*, 2018**).

1.5.2. La fertilité :

Selon **Giorgetta, (2020)**, le gattilier est un remède naturel qui peut aider à réguler le cycle menstruel en agissant sur le corps jaune, particulièrement lorsque celui-ci a une sécrétion insuffisante. Cette insuffisance de sécrétion de progestérone peut être l'une des causes de la stérilité chez la femme, et le gattilier pourrait être une solution pour le traitement de cette pathologie. Toutefois, bien que certaines études aient été menées pour évaluer l'efficacité du gattilier dans le traitement de la stérilité féminine due à une insuffisance de sécrétion de progestérone, aucune preuve concrète de son efficacité n'a été établie jusqu'à présent.

1-5-3 Bénéfices contre le syndrome prémenstruel :

Le gattilier est essentiellement indiqué en cas de règles douloureuses (spasmes de l'utérus, douleurs dans le bas du dos) ou de cycles irréguliers. Ce sont les composés di-terpéniques qu'il contient qui agissent sur l'hypophyse et stimulent certains récepteurs, réduisant la sécrétion de prolactine, une hormone sécrétée par l'hypophyse et responsable du dérèglement du cycle féminin. En parallèle à cette inhibition de prolactine, ces composés augmentent parallèlement celle de progestérone : on parle d'effet progestérone-like (**Lafaurie, 2023**).

Des études ont montré que le gattilier peut aider à soulager les symptômes du syndrome prémenstruel, tels que les douleurs abdominales, les ballonnements, la tension mammaire et l'irritabilité. Une étude de 2009 publiée dans le Journal of Women's Health a montré que les femmes qui ont pris un complément de gattilier ont signalé une amélioration significative de leurs symptômes par rapport à celles qui ont pris un placebo (**Schellenberg, 2001**).

1.5.4. Effets secondaires et contre-indications :

Les effets indésirables sont rares, ils peuvent aller des troubles digestifs légers en passant par des maux de tête, des nausées ou encore des allergies cutanées. On déconseille le gattilier aux femmes enceintes et allaitantes en raison de son action hormonale. Il est également contre-indiqué pour les femmes ayant recours à la fécondation in vitro, car le gattilier pourrait empêcher la fixation de l'embryon sur l'utérus. Le gattilier pourrait interagir avec le traitement hormonal de substitution (TSH) ainsi qu'avec certains médicaments prescrits pour réduire les symptômes de la maladie de Parkinson.

Enfin, le gattilier est déconseillé aux femmes ayant des antécédents personnels ou familiaux de cancers du sein (**Lafaurie, 2023**).

2. Composition du gattilier :

Le gattilier est principalement composé de terpènes (avec l'huile essentielle, les iridoïdes et les diterpènes), de composés phénoliques (avec les phénols, les flavonoïdes, les tanins) mais aussi d'autres composés présents en moindre quantité (huiles grasses). (**Daovy, Allais et al., 2008, Bruneton et al., 2009**) (Annexe1). Il a été possible de mettre en évidence les composés de la plante grâce à des chromatographies (en phases liquide, liquide haute performance, par perméation de gel, à contre-courant ultra rapide) ou à des spectroscopies (IR, RMN) (**Masure, 2018**).

2.1. Les terpènes :

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures synthétisés par le métabolisme végétal à partir de l'isoprène C_5H_8 et qui sont principalement présents dans les huiles essentielles des plantes aromatiques. Ils sont produits par de nombreuses plantes (**Masure, 2018**).

2.1.1. Huile essentielle :

Selon la Pharmacopée Française, ce sont des « produits odorants, généralement de composition complexe, obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par un entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage ».

Selon **Bruneton et al., (1999)**, Elles sont un mélange complexe de constituants qui appartiennent de façon quasi exclusive à deux groupes distincts:

- les terpénoïdes: ce sont les monoterpènes et des sesquiterpènes volatils
- les dérivés aromatiques du phénylpropane: présents en moindre quantité

L'huile essentielle va se retrouver aussi bien dans le fruit (principalement) que dans les feuilles ou dans les fleurs (Annexe 2). Sa composition peut varier en fonction de plusieurs facteurs (la partie utilisée, le degré de maturité du fruit, l'état de la drogue, la durée de distillation ou encore la localisation géographique de la plante). Les teneurs en fonction de la bibliographie retenue divergent. Nous pouvons relever par exemple des teneurs de 0,20 à 1,40% pour les fleurs ou de 0,10 à 1,8% pour le fruit (**Allais, (2008)(in Masure, 2018)**).



Figure n°6: Huile essentiel du gattilier sauvage.

(<https://www.sunday.fr/huile-essentielle-gattilier-v-agnus-castus-bosnie-herzegovine.html>).

2.1.2 Iridoïdes :

Les iridoïdes sont des composés monoterpéniques caractérisés par un squelette cyclopenta – pyranique nommé iridane, principalement sous forme d'hétérosides ou glycosides d'iridoïdes, on inclue dans ce groupe les iridoïdes non hétérosidiques et les séco-iridoïdes à cycle ouvert en 7,8. Ils représentent une teneur d'environ 1% dans le fruit (Allais, (2008), Bruneton, (2009) (in Masure, 2018).

Certaines études ont montrés que ces molécules possédaient diverses activités thérapeutiques, comme étant par exemple analgésiantes, anti-hépatotoxiques, anti-tumorales, antispasmodiques, antivirales, cardiovasculaires, anti-inflammatoires, cholérétiques, hypoglycémiantes ou encore laxatives. (Bas *et al.*, 2007, Crisan *et al.*, 2010, Jaishree *et al.*, 2010, Li *et al.*, 2004, Sharma *et al.*, 1994, Tundis *et al.*, 2008).

L'agnuside aurait notamment une action sur les récepteurs de la progestérone et ER-alpha (Hu *et al.*, 2007).

2.1.3. Diterpènes :

Ils sont bi cycliques, de type labdane, et tous ont été retrouvés dans le fruit lors des recherches : Le Rotundifurane, le vitexilactone (Allais, (2008) (in Masure, 2018), la vitrefoline D (Bruneton *et al.*, (2009) (in Masure, 2018), le vitexlactam A (Li *et al.*, (2002) (in Masure, 2018) les diterpènes B-111, B-116 et B-117 (Wuttke *et al.*, (2003) (in Masure, 2018), le viteagnusine (Chen *et al.*, (2011) (in Masure, 2018), et des dérivés du clérodane (clerodadienols et clerodatrienols) (Wuttke *et al.*, (2003) (in Masure, 2018) comportant un squelette « clérodane ». Leurs structures exactes restent encore à déterminer, on sait néanmoins que cinq d'entre eux dérivent d'une structure clerodadien-13-ol et un d'une structure clerodatrien-13-ol Ces composés ont principalement des activités antimicrobiennes et anti-inflammatoires. (Bas *et al.*, (2007) (in Masure, 2018).

2.2. Les composés phénoliques :

Ce sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique et/ou de celui d'un polyacétate. Ils comportent au moins un noyau benzénique auquel est lié au moins un groupe hydroxyle. Ils regroupent quatre familles (les acides phénols, les flavones, les anthocyanes et les tanins (**Masure, 2018**)).

2.2.1 .Les acides phénols :

D'après **Cheng et al., (in Masure,2018)**, l'acide p-hydroxybenzoïque est le seul dérivé de l'acide benzoïque présent dans le gattilier, et on peut le trouver dans les graines et les fruits de la plante (**Castagnou et al., (1964) (in Masure, 2018 , Hoberg et al., 2000)**). Il a été identifié que l'acide férulique est le seul dérivé de l'acide cinnamique présent dans le fruit du gattilier. Ce composé appartient à la famille des phénols, qui ont démontré des propriétés antibactériennes, antivirales et antifongiques.

2.2.2. Les flavonoïdes :

Ils se présentent ici sous forme libre ou d'hétéroside. Dans le *Vitex agnus castus L.*, les composés de type flavones et flavonols sont soit liés à des oses, soit libres. Certains composés ont une plus grande importance et seront donc plus développés. La casticine, isolée dans les fruits (**Belic, (1961) (in Masure, 2018)**, (**Wollenweber, (1983) (in Masure, 2018)**, (**Hoberg, (2001) (in Masure, 2018)**, (**Chan.Eet al., (2018)(in Masure, 2018)**) et dans les feuilles (**Gamma et al., (1978) (in Masure, 2018)**), est le composant de référence selon la Pharmacopée Européenne. Cette dernière utilise le fruit entier, mûr et séché de *Vitex agnus castus L.* : "la teneur doit être au minimum de 0,08% pour la drogue desséchée". La réglementation belge autorise la commercialisation d'une spécialité contenant du gattilier uniquement si la partie utilisée est le fruit séché et avec une prise maximum de 96 mg de fruit séché par jour. La pharmacopée française s'attache également à la casticine comme substance de référence, mais les parties qui doivent être utilisées sont soit le fruit, soit la plante entière.

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels chez les végétaux. Ils sont responsables de la coloration des pétales et ont donc une grande importance dans la pollinisation. Leur propriété fondamentale est leur caractère antioxydant, mais ils sont également impliqués dans le système de défense des cellules végétales (réponse au stress), la photosensibilisation, les transferts d'énergie ou la régulation des hormones de croissances. On leur reconnaît des propriétés antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti-allergiques, anti-ulcéreuses ou encore anti-cancéreuses. (**Di Carlo et al., (1999) (in Masure, 2018)**).

Selon **Allais, (2008) in Masure, (2018)**, rapporte des teneurs en flavonoïdes qui diffèrent en fonction de la partie de la plante étudiée :

Tableau n°3 : La teneur des flavonoïdes selon la partie de la plante. (Allais, (2008) (in Masure,2018).

Partie de la plante	Teneurs en flavonoïdes rapportée (en%)
Feuilles	0,18 à 0,3%
Sommités fleuris	0,09 à 0,14%
Fruits	0,05 à 0,07%

La partie de la plante qui présente la plus forte teneur en flavonoïdes est les feuilles.

2.2.3. Les tanins :

D'après Masure, (2018) et Cowan *et al.*, (1999), ont été menées par différentes équipes pour déterminer la teneur en tanins en fonction des parties de la plante étudiées. Les résultats indiquent que les feuilles sont la partie de la plante la plus riche en tanins, des produits naturels ayant la capacité de précipiter les protéines en solution aqueuse. Les tanins peuvent former des complexes avec les protéines, ce qui leur confère des propriétés antimicrobiennes.

2.2.4. Les lignanes :

Le vladirrol F a été mis en évidence pour la première fois dans le gattilier par Chen *et al.*, (2011). Les lignanes possèdent, tout comme les autres composés phénoliques, une activité antimicrobienne, anti-inflammatoire et anti-oxydante (El Gharraset *al.*, (1999) (in Masure, 2018).

3. Utilisation et posologie du gattilier :

D'après Lafaurie, (2023), Il existe différents types d'extraits de gattilier, et la quantité recommandée dépend de leur concentration en principes actifs. La dose habituelle pour les baies séchées est de 28 à 52 mg par jour. Les extraits liquides standardisés peuvent être concentrés en casticine ou en agnuside. Les doses recommandées pour les extraits standardisés en casticine sont de 2,5 mg à 4,5 mg par jour (0,6% à 1%), tandis que les extraits standardisés en agnuside sont recommandés à une dose de 1 à 4 mg par jour (0,5% à 6%). Le gattilier est souvent disponible sous forme de gélules, et la dose recommandée est d'une à deux gélules par jour.

Il est important de noter que les effets bénéfiques du gattilier ne sont observables qu'après trois mois de prise régulière, ce qui nécessite de ne pas interrompre la cure trop tôt.



Figure n°7: Les graines de *vitex agnus castus L.* (Macheteau, 2021).

4. L'extraction végétale :

Selon **Marais Ouest** La phyto-extraction est un processus vise à extraire certains composants présents dans les plantes à l'aide de solvants. L'opération consiste en une séparation solide-liquide, dans laquelle la matière solide (la plante) entre en contact avec un fluide (le solvant) pour dissoudre le composé d'intérêt. Le résultat de cette opération est l'extrait végétal, qui est contenu dans la solution obtenue après dissolution. Après cette étape, le solvant peut être éliminé pour isoler l'extrait de plante. Si l'extrait est utilisé dans les aliments, il n'est pas nécessaire de le séparer du solvant. Dans d'autres cas, cependant, une deuxième étape de séparation peut être nécessaire pour obtenir un extrait sec.

Malheureusement, le terme "extrait" est souvent utilisé de manière abusive pour des produits qui ne sont pas des extraits obtenus par extraction solide-liquide, mais simplement des poudres de plantes broyées. Il est donc important de faire attention à cette utilisation abusive du terme "extrait" dans l'industrie des compléments alimentaires et des produits de santé naturels (<https://www.berkem.com/fr/expertise/extraction-vegetale>).

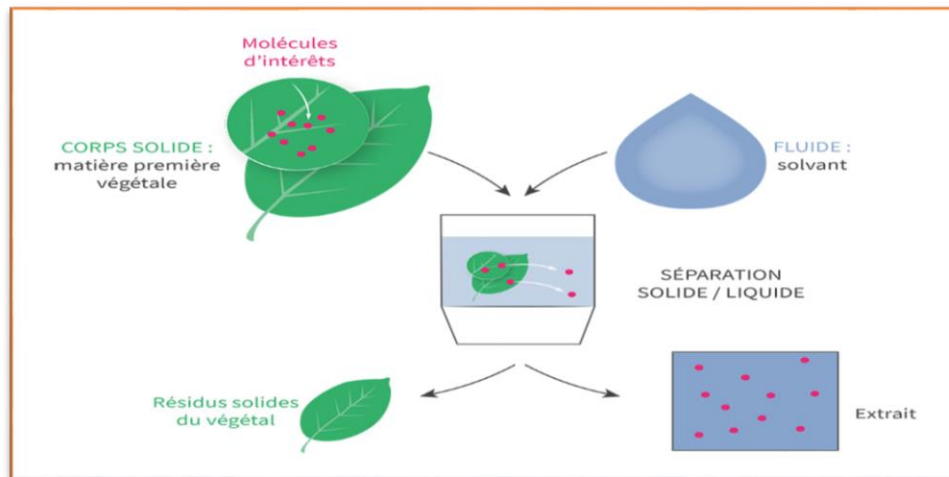


Figure n°8: Processus d'une extraction végétale.
(<https://www.berkem.com/fr/expertise/extraction-vegetale>).

5. Le microorganisme pathogène :

Il s'agit d'organismes vivants qui partagent la caractéristique commune d'être des parasites et qui ont la capacité de se reproduire dans un organisme hôte supérieur, notamment chez les humains, entraînant différents troubles de santé, dont la gravité peut varier. Pour ces parasites, l'eau ne représente qu'un moyen de transport et un vecteur de contamination. Leur survie dans l'eau est généralement limitée, mais cela dépend de chaque organisme. Les formes sporulées sont généralement les plus résistantes. Certains virus ou bactéries hébergent par des réservoirs qui abritent les parasites, tandis que certains vers présentent des formes larvaires qui se développent dans un ou plusieurs hôtes intermédiaires vivant dans un milieu aquatique, tels que des mollusques, des crustacés ou des poissons. La persistance de ces organismes dépend également des conditions physico-chimiques du milieu et de la présence de prédateurs.

Ces microorganismes pathogènes peuvent être des : virus, bactérie, protozoaire, champignon...etc, (**BeCloud.com.**).

5.1. Les microorganismes et les infections :

D'après **Giorgetta, (2020)**, une infection se réfère à l'invasion et à la multiplication de micro-organismes à l'intérieur d'un organe d'un organisme vivant. Ces micro-organismes peuvent être des virus tels que ceux responsables de la grippe, des bactéries comme les streptocoques ou les staphylocoques dans les infections cutanées, ou encore *Escherichia Coli* dans les infections urinaires. Les infections peuvent également être provoquées par des parasites tels que les protozoaires responsables de la toxoplasmose, ou par des champignons tels que *Candida albicans* provoquant des infections fongiques. Face à cette agression, l'organisme met en place des mécanismes de défense pour éliminer les micro-organismes indésirables, explique le Dr Patrick Aubé. Le corps réagit à l'infection en déployant deux types de réponse immunitaire.

Tout d'abord, il y a une réponse immunitaire rapide et innée qui ne crée pas de mémoire immunitaire. Cette réponse implique la production de cellules de défense qui phagocytent les micro-organismes envahisseurs. Parmi ces cellules, on trouve les granulocytes, les monocytes, les mastocytes, les macrophages et les cellules dendritiques.

Ensuite, il y a une réponse immunitaire adaptative qui est plus lente mais produit une mémoire immunitaire. Cette réponse est orchestrée par différents types de globules blancs appelés lymphocytes, qui fabriquent des anticorps spécifiques pour combattre les agents pathogènes. Ces anticorps sont adaptés à chaque microbe agresseur rencontré.

Les premiers signes de cette réponse immunitaire face à l'infection se manifestent par des phénomènes inflammatoires tels que la fièvre, la rougeur, la chaleur, la douleur et la fatigue. Ces symptômes sont des manifestations de l'activation du système immunitaire dans sa lutte contre l'envahissement microbien.

5.2. Microorganisme provoquant des infections :

5.2.1. Bactéries Gram négatif :

On désigne comme étant Gram négatif les bactéries qui apparaissent colorées en rose lorsqu'on utilise la technique de coloration de Gram. La coloration de Gram peut se faire sur tous types de prélèvements : sanguin, urinaire, vaginal, digestif, articulaire... Grâce à la différenciation qui s'effectue entre bactéries à Gram négatif et celles à Gram positif, on peut classer les différentes bactéries. Les bactéries à Gram négatif possèdent une double membrane et contiennent de nombreuses protéines. Entre les deux membranes se trouvent d'importantes quantités d'enzymes et de nutriments qui interviennent notamment dans la synthèse des protéines et dans le métabolisme (Giorgetta, 2022).

5.2.1.1. *Klebsiella pneumoniae* :

D'après les recherches de Garbonnelle *et al.*, (1987) (in Nathalie, 2006), est un genre de bactérie, non mobiles de famille Entérobactériaceae, capsulés avec des colonies à aspect de muqueuses Elle se trouve dans les matières fécales de l'homme et de l'animal, elle provoque les bronchites, bronchopneumonies, pleurésies, infection urinaire et septicémie.

5.2.1.2. *Escherichia coli* :

Selon Hart et Sharas, (2002), bacille à Gram négatif apparentant à la famille des Entérobactériaceae, responsable des infections urinaires, septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastro-entérites

5.2.2. Bactéries Gram positif :

Les bactéries (bacilles, cocci) qui gardent une couleur violette au cours d'une coloration de Gram sont caractéristique des bactéries qui ont une paroi cellulaire composée d'une couche épaisse d'une substance particulière (appelée peptidoglycane) (Aqua Portail, 2021).

5.2.2.1. *Streptocoque* :

Le terme streptocoque désigne un genre composé d'un vaste ensemble de bactéries ubiquitaires et aux formes arrondies. Certaines d'entre elles sont pathogènes, tandis que d'autres sont commensales et composent les flores digestives de différents animaux, dont l'Homme. (<https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-streptocoque-13307/>)

5.2.2.2. *Staphylococcus Aureus* :

Selon les recherches de Rosenbach, (1884), ce sont des coques gram positif arrondis d'environ 1µm de diamètre immobiles dépourvus de spores et de capsules responsable de septicémie, infection alimentaire et entérocolites aiguës ; inflammation locales et infection cutanée muqueuse, panaris, abcès du poumon, entérites, inflammation de l'épithélium vulvo-vaginal.

5.2.3. Les levures :

5.2.3.1. *Candida albicans* :

D'après **Lachance et al., (2011)**, elle provoque des infections fongiques (candidiase ou candidose) essentiellement au niveau des muqueuses digestive et gynécologique. Les candidoses sont une cause importante de morbidité chez les patients immunodéprimés comme les patients atteints du sida, les patients cancéreux sous chimiothérapie ou après transplantation de moelle osseuse.

Les candidoses orale et œsophagienne sont fréquentes chez le patient atteint de sida ; lorsque *Candida* s'infiltré dans le flux sanguin, l'infection devient systémique et on parle alors de candidémie.

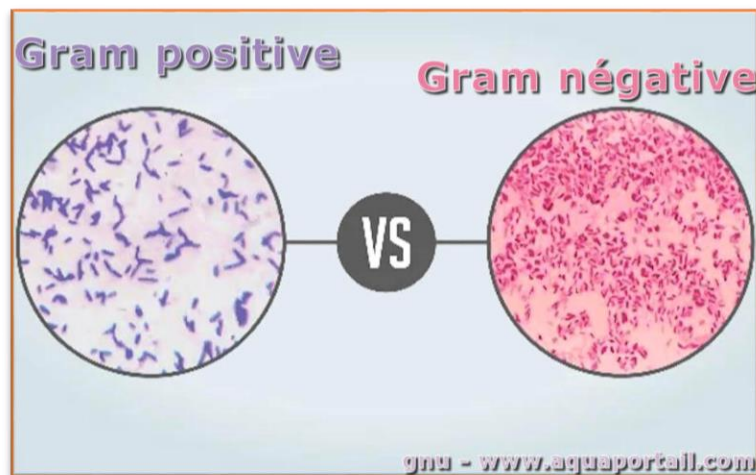


Figure n°9: Comparaison entre bactérie gram + et bactérie gram – sous microscope optique.
(Aqua Portail, 2021).

6. Les antibiotiques :

Souvent, les antibiotiques sont des composés dérivés de substances isolées dans la nature. La pénicilline, par exemple, fut découverte par hasard par Sir A. Flemming en 1928 lorsqu'il voulut comprendre pourquoi les bactéries qu'il cultivait dans son laboratoire étaient mortes. Il se rendit finalement compte qu'une moisissure du genre *Penicillium* fabriquant naturellement la pénicilline s'était introduite dans ses boîtes de culture.

Les antibiotiques sont efficaces contre les infections d'origine bactérienne :

- Les antibiotiques bactériostatiques empêchent la prolifération des bactéries.
- Les antibiotiques bactéricides détruisent les bactéries.

Leur action s'arrête à ce type d'agents pathogènes : ces médicaments n'ont aucune action contre les virus ou les autres agents infectieux. Il existe plusieurs groupes d'antibiotiques, qui ciblent des familles de bactéries spécifiques ou une bactérie en particulier (**Resplandy, 2022**).

6.1. Les familles d'antibiotique :

Les différentes familles des antibiotiques sont :

6.1.1. Les bêta-lactamines :

Ils comprennent les pénicillines, qui sont les antibiotiques les plus anciens et les plus utilisés en médecine conventionnelle occidentale. Les pénicillines de groupe A agissent sur un grand nombre de germes. Les pénicillines sont efficaces contre les infections à streptocoque (bactéries Gram positives) et les infections à méningocoques (bactéries Gram négatives). Cette famille d'antibiotiques est utilisée pour traiter de nombreuses infections (poumons, nez, gorge, oreilles, gencives, dents, du système digestif et urinaire ou des voies génitales chez la femme) (**Resplandy, 2022**).

6.1.2. Les cyclines :

Leur action porte sur plusieurs germes. Les cyclines sont indiquées pour traiter les maladies respiratoires et génitales, mais également pour lutter contre l'acné (**Resplandy, 2022**).

6.1.3. Les aminosides :

Ces antibiotiques agissent contre les bactéries Gram positives, en particulier les staphylocoques. Ils sont indiqués en cas d'infection bactérienne grave et sont souvent administrés par voie intraveineuse (**Resplandy, 2022**).

6.1.4. Les macrolides :

Ces antibiotiques sont souvent une alternative aux pénicillines pour les patients qui en sont allergiques. Ils agissent contre les infections de la sphère ORL (**Resplandy, 2022**).

6.1.5. Les quinolones :

Les fluorquinolones sont très utilisées pour soigner de nombreuses infections, car ils ont une action à large spectre. Toutefois, leur utilisation par voie orale et injectable est aujourd'hui restreinte, en raison d'un risque d'effets indésirables rares mais grave (**Resplandy, 2022**).

6.2. Mode d'action d'antibiotique :

Selon les recherches de **Mohammedi.D**, les antibiotiques agissent au niveau moléculaire en ciblant des étapes métaboliques essentielles à la survie des bactéries. Leur mode d'action varie et inclut notamment :

Une toxicité sélective en perturbant :

- La synthèse de la paroi bactérienne
- La membrane cytoplasmique
- La synthèse des protéines
- Les acides nucléiques

Une inhibition compétitive : Dans ce cas, l'antibiotique agit comme un composé structuralement similaire, interférant avec une fonction cruciale pour la bactérie.

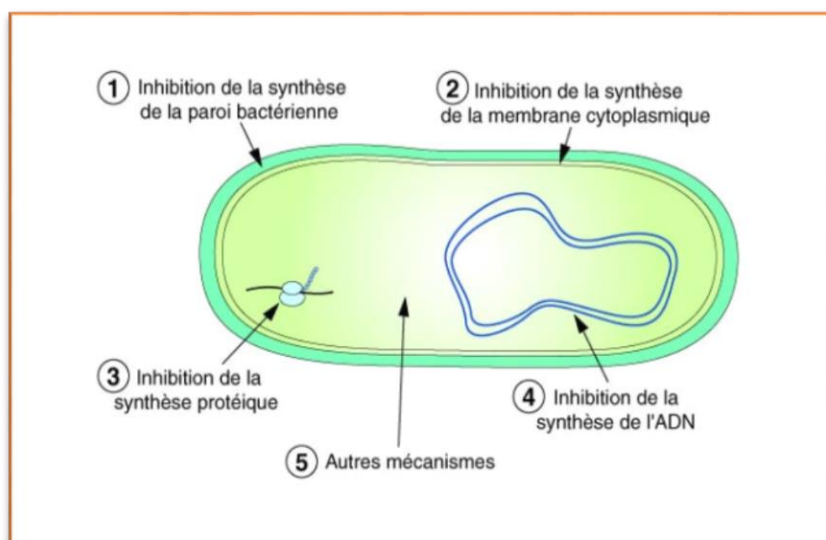


Figure n°10: Mode d'action des antibiotiques. (**bacteriologie.net**).

6.3. La résistance à l'antibiotique :

La propagation d'organismes pathogènes résistants aux antibiotiques est une des menaces les plus sérieuses pour un traitement efficace d'une maladie.

6.3.1. Mécanismes de résistance :

D'après **Kechkar Madina, (2008)**, les bactéries développent une résistance aux antimicrobiens de différentes manières. Il convient tout d'abord de noter que le type spécifique de résistance mécanique n'est pas conservé à une seule classe de substances. Deux types de bactéries peuvent utiliser des mécanismes différents résistant au même médicament de chimiothérapie.

De plus, des mutants résistants apparaissent spontanément, puis être sélectionnés. Les agents pathogènes deviennent la résistance survient souvent simplement en bloquant la pénétration des antibiotiques, en réduisant

La perméabilité provoque une résistance. La deuxième stratégie de résistance est le rejet extracellulaire de matériel de la cellule. Certains agents pathogènes ont des translocases sur leurs membranes plasmidiques, communément appelées pompes à efflux, elles expulsent le médicament.

De nombreuses bactéries résistent aux attaques en inactivant les antimicrobiens. Des modifications chimiques. Les antimicrobiens peuvent également être inactivés en ajoutant des groupes fonctionnels. Les produits chimiques, les organismes résistants peuvent phosphoryler ou acyler les antimicrobiens. Étant donné que chaque agent chimio-thérapeutique agit sur une cible spécifique, la résistance aux médicaments se produit lorsque l'enzyme ou l'organe cible est modifiée d'une manière qui n'y est plus sensible. Des altérations des enzymes sensibles peuvent altérer l'effet des anti-métabolites.

Les bactéries peuvent utiliser des voies alternatives pour éviter les séquences inhibées par les réactifs, soit augmenter la production des métabolites cibles.

6.4. L'antibactérien :

Un antibactérien est une substance active utilisée pour lutter contre des bactéries, les *gênautes*, qui détruit les bactéries avec une action bactéricide. On peut également trouver les appellations antimicrobien ou antimicrobe (Aqua Portail, 2021).

6.4.1. L'activité antibactérienne :

À chaque antibiotique est associée une liste d'espèces bactériennes sur lesquelles il est supposé efficace : on parle de « spectre d'activité antibactérienne ». Les bactéries peuvent être naturellement résistantes à certaines molécules (résistance naturelle), mais elles peuvent aussi acquérir une résistance (résistance acquise), qui peut évoluer en fonction du temps et des souches. Ces données de résistance sont renseignées dans le spectre d'activité.

Afin de faciliter le choix d'un traitement antibiotique en fonction de la bactérie et des résistances connues, les bactéries sont réparties en 3 classes selon les recommandations **EMEA, (2004) :**

- **Habituellement sensible :** composée de souches sensibles ou modérément sensibles à l'antibiotique. Le taux de résistance ne dépasse pas 10%. La réalisation d'un antibiogramme n'est pas nécessaire.

- La présence d'un signe \$ signifie que l'espèce est naturellement intermédiaire (en l'absence d'un mécanisme de résistance). Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus *in vitro* ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique.

- **Inconstamment sensible** : le taux de résistance dépasse 10% chez des espèces naturellement sensibles, qui font l'objet d'une information sous forme de pourcentage indiquant la fréquence de résistance acquise connue. La sensibilité est donc imprévisible en l'absence d'antibiogramme. La présence d'un signe * signifie qu'il y a une prévalence de la résistance > 50% pour cette espèce dans au moins un pays européen.

- **Naturellement résistante** : présente une résistance naturelle de haut niveau. Il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée (CMI > C) (<https://www.antibio-responsable.fr/antibiotiques/familles-antibiotiques>).

6.5. L'antifongique :

Les antifongiques (ou antifungiques) tirent leur nom du latin fungus qui signifie champignons. Ce sont donc des médicaments capables de traiter les mycoses, c'est-à-dire les infections provoquées par des champignons microscopiques (<https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-antifongique-2994/>).

CHAPITRE

II

MATERIELS ET METHODES

1. Matériel végétal et échantillonnage :

Dans cette étude, les échantillons du matériel végétal utilisé ont été récoltés au mois d'avril 2023 dans la région d'Azzaba (Menzel el abtal) de la wilaya de Skikda.

Le matériel végétal est constitué de feuilles de la plante *Vitex agnus castus L.* (Fig.11).

- Les feuilles sont lavées deux fois et laissées sécher à l'ombre et à température ambiante dans un endroit aéré, pendant 7 jours.
- Les feuilles sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique et le broyat obtenu a été conservé dans des sachets à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.



Figure n °11: Feuilles de la plante *Vitex agnus castus L.* (Originale, 2023).

2. Extraction des composés phénoliques :

Les composés phénoliques ont été extraits à partir des feuilles de cette plante Par la méthode: Extraction par macération dans le méthanol aqueux.

2.1. Macération dans le méthanol aqueux (extraction solide/liquide) :

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole. (Hamia *et al.*, (2014), avec quelques modifications :

- Le protocole de la macération de cette plante est le suivant:
- Peser 55.77 gramme de la matière végétale ;
- dans un bécher mettre la matière végétale (55.77 g) ;
- mettre (350 ml) du méthanol aqueux sur la matière végétale ;
- Et laisser le mélange s'agiter sur un agitateur pendant 5 h, ensuite filtrer sur un papier filtre (fig.12) ;
- Récupérer le filtrat dans un flacon ;
- Répéter la procédure deux fois (fraction retenue par le filtre dans 700 ml méthanol aqueux) ;
- Les macéras hydro-alcoolique sont placés dans un seul récipient.

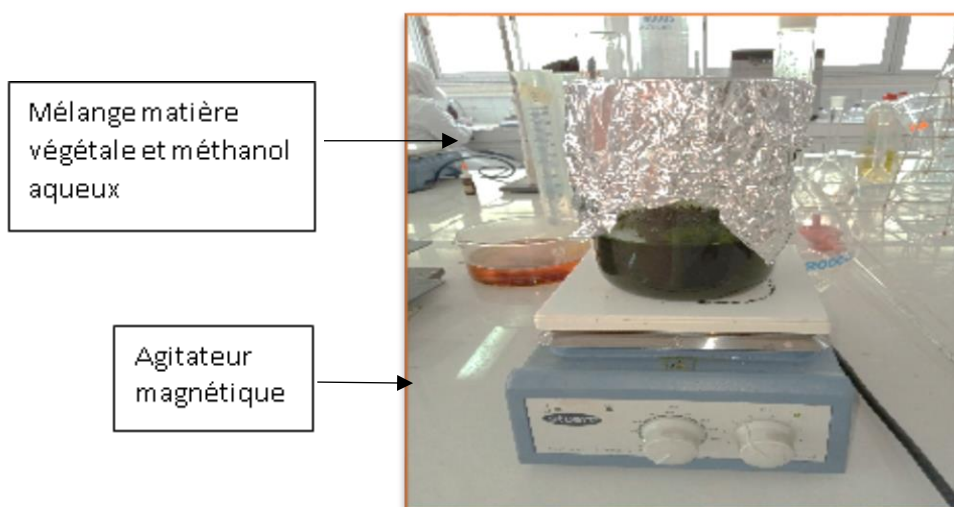


Figure n°12 : Macération de la matière végétale dans le méthanol aqueux (Originale, 2023).



Figure n°13: Filtration de la préparation Gattilier + méthanol (Originale 2023).

1.2. Le principe de l'évaporateur rotatif :

Le mélange de solvant et de soluté est placé dans le ballon droit, celui-ci est plongé dans un bain-marie (Fig.14). Il est incliné et animé d'un mouvement de rotation de manière à créer un film de liquide et ainsi accroître la surface d'évaporation du solvant. La pression à l'intérieur du montage est abaissée au moyen d'une trompe à eau ce qui augmente la vitesse d'évaporation. Après condensation dans le réfrigérant, le solvant est récupéré dans le ballon de gauche (Ould Amar, 2013).



Figure n °14: L'évaporateur rotatif RE-100 PRO (Originale, 2023).

2.3. Le rendement d'extraction :

Le rendement exprimé en pourcentage par rapport au poids du matériel de départ, est déterminé par l'équation suivante :

$$R(\%) = (M_{ext}) \times 100 / M_{éch}$$

- R : Rendement (en%) ;
- M_{ext} : est la masse de l'extrait après l'évaporation du solvant en g ;
- M_{éch} : est la masse de l'échantillon végétal en gramme.

$$R(\%) = (16.2g) \times 100 / 111.77g$$



Figure n °15 : L'extrait obtenu après élimination du solvant pour le calcul du rendement d'extraction (Originale, 2023).

3. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des différentes concentrations de *Vitex agnus castus* :

Nous avons testé l'activité de *Vitex agnus castus L* à différentes concentrations vis-à-vis de quelques microorganismes (bactéries, levures).

3.1. Matériel bactérien :

Les souches bactériennes et fongiques utilisées dans le présent travail proviennent des laboratoires publics et privés de la wilaya de Skikda. Elles sont largement rencontrées dans diverses pathologies humaines. Elles sont souvent multi-résistantes aux antibiotiques et ces bactéries font partie de deux groupes des microorganismes, qui sont des microorganismes pathogènes et des microorganismes contaminants. Dans notre travail nous avons retenu les espèces suivantes :

Tableau n°3 : Les souches utilisées.

	Microorganisme	Gram
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	Négatif
	<i>Klebsiella</i>	
	<i>Streptococcus sp</i>	Positif
	<i>Staphylococcus</i>	
Levure	<i>Candida albicans</i>	Positif

3.2. Milieux de culture :

Dans le but de l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des composés phénoliques isolés, nous avons utilisé milieux de culture :

- Mueller-Hinton (MH).
- Gélose Sabouroud.
- Gélose Chapman.
- Gélose Hektoen.

3.3. Préparation des dilutions méthanolique:

Pour mesurer l'activité de l'extrait, relative à une souche bactérienne donnée, Pour cela, nous avons effectué une série de dilutions comprenant : 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125 et 0,0625 mg/ml. (Annexe 03). Différentes dilutions sont diffusées avec les bactéries d'intérêt.

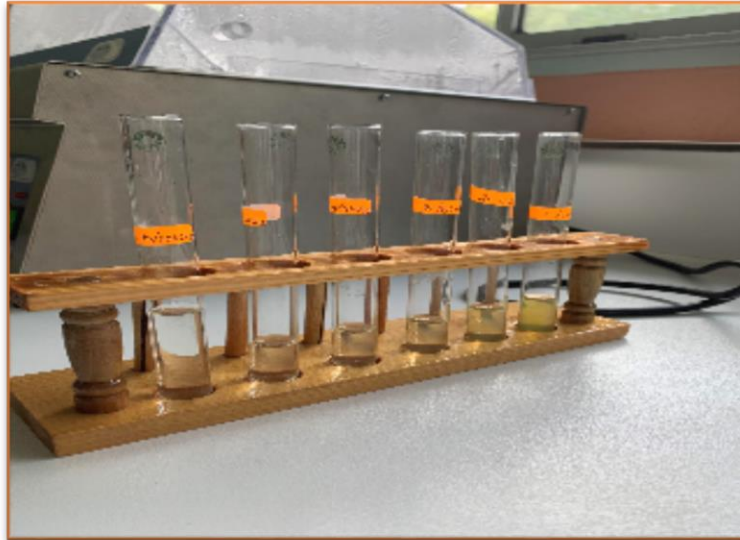


Figure n°16 : Les solutions filles (Originale, 2023).

4. Antibiotique et antifongique comme contrôle positif :

L'antibiotique utilisé est La céphalexine est un antibiotique qui appartient à la famille des médicaments appelés céphalosporines. On l'utilise pour traiter certains types d'infections bactériennes. Contient 1000 mg de céphalexine sous forme de céphalexine monohydraté.

L'antifongique utilisé est le fluconazole c'est un agent antifongique bis-triazolé utilisable par voies orale et injectable intraveineuse. Le fluconazole agit en inhibant la biosynthèse de l'ergostérol d'origine fongique. Fluconazole 150 mg gélule.

5. Activité antibactérienne :

5.1. Le ré-isolement (repiquage) des souches bactériennes :

La revivification des souches consiste a Prélevé une partie d'une culture de bactéries pour la transplanter sur un milieu neuf où elle continuera sa croissance. Incubation pendant 24h à 37°C pour les bactéries, et 48h à 30°C pour les levures.

- Protocole :
- A l'aide d'une pipette pasteur ou anse de platine on prélève une trace de la culture et on l'ensemence dans des milieux neuf.
- Incubation dans l'étuve pendant 24h à 37°C.

Les boites doivent être placées couvercle en bas.

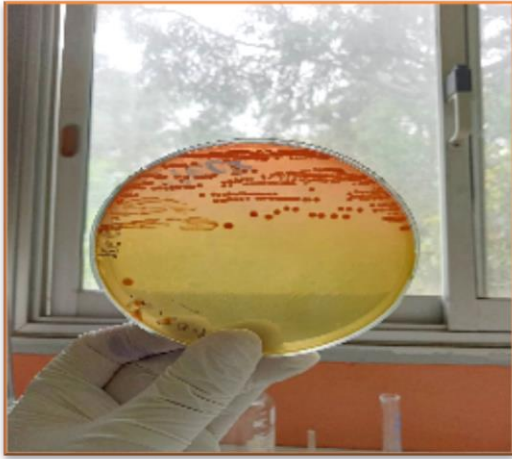


Figure n °17: *Klebsiella pneumoniae* après 24H d'incubation. (Originale, 2023).

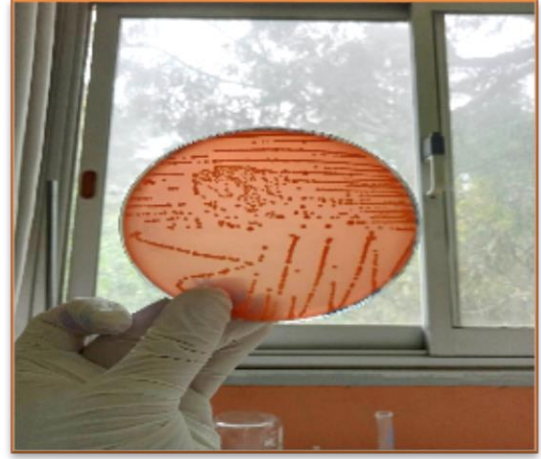


Figure n°18: *Escherichia coli* après 24H d'incubation. (Originale, 2023).



Figure n °19: *Streptococcus sp* après 24H d'incubation. (Originale, 2023).

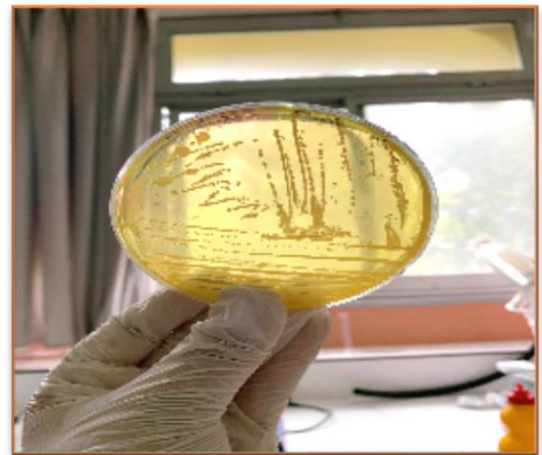


Figure n° 20: *Staphylococcus aureus* après 24H d'incubation. (Originale, 2023).

5.2. Identification des souches :

Technique de l'état frais : Une préparation à l'état frais permet d'examiner la mobilité des bactéries et d'en déceler certains modes de groupement. (Voir annexe 03).

5.3. Coloration de Gram :

➤ Principe :

La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries à Gram négatif qui apparaissent roses et les bactéries à Gram positif qui apparaissent violettes. Cette différence de coloration est liée à des différences de nature de la paroi bactérienne. Elle permet de renseigner sur :

- Le type Gram + ou Gram - .
- La forme des bactéries.
- La taille.

- Le mode de regroupement.

5.4. Préparation de l'inoculum :

A partir des boîtes contenant les germes pathogènes on a préparé des suspensions pour chaque espèce. A l'aide d'une pipette pasteur on prélève deux ou trois colonies pures et bien isolées qu'on décharge dans un tube contenant 5ml d'eau physiologique stérilisée. L'enrichissement dure pendant 2 à 3 h.

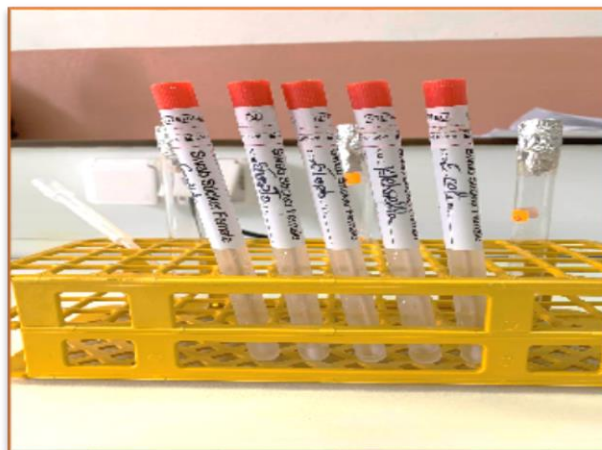


Figure n°21 : Préparation des inocula (Originale, 2023).

5.5. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur milieu solide Muller Hinton :

C'est une méthode qualitative permettant de tester la sensibilité ou la résistance des micro-organismes à l'extrait par contact direct.

5.5.1. Préparation des disques d'aromatogramme :

Pour effectuer ce test, des disques de papier wattman de 5 mm de diamètre imprégnés dans des différentes concentrations. Une fois les géloses Mueller Hinton sontensemencées, les disques imprégnés de chaque concentration de l'extrait sont disposés sur la surface de la gélose (Fig. n°22).

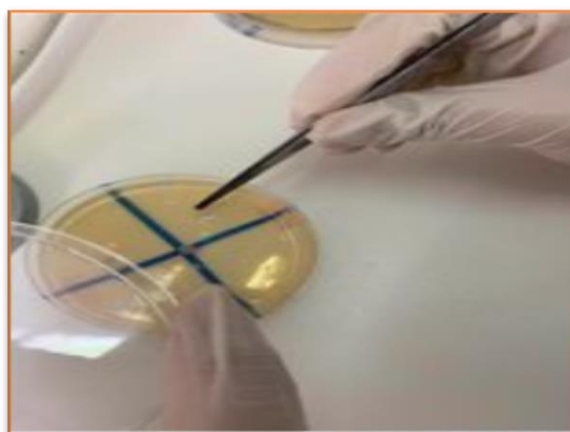


Figure n° 22: Dépôt des disques des dilutions (Originale , 2023).

5.5.2. Incubation et lecture:

Pendant 18 à 24 heures à 37°C, pour toutes les boîtes, et à température ambiante (température de la chambre). Les résultats sont observés le lendemain des expériences, en mesurant les diamètres des halos clairs tout autour des disques, ou zones d'inhibition (Fig.23, 24, 25, 26).

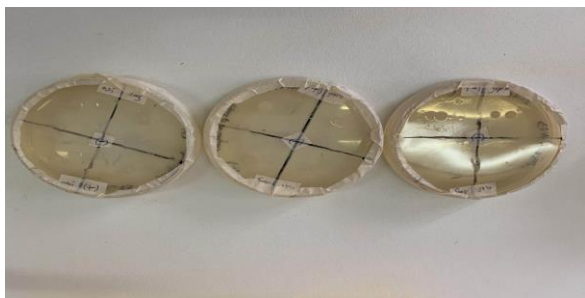


Figure n°23 : Aromatogramme d'extrait de sur la souche bactérienne de *Streptococcus sp* (Originale, 2023).



Figure n°24: Aromatogramme d'extrait de sur la souche bactérienne de *Klebsiella pneumoniae* (Originale, 2023).

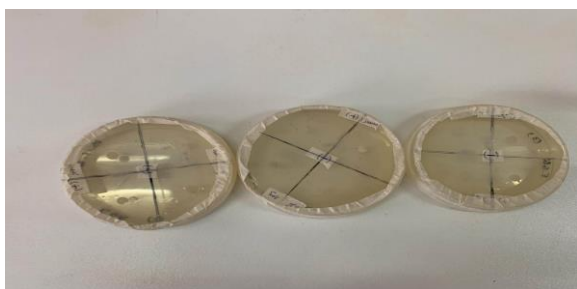


Figure n°25: Aromatogramme d'extrait de sur la souche bactérienne de *Escherichia coli* (Originale, 2023).

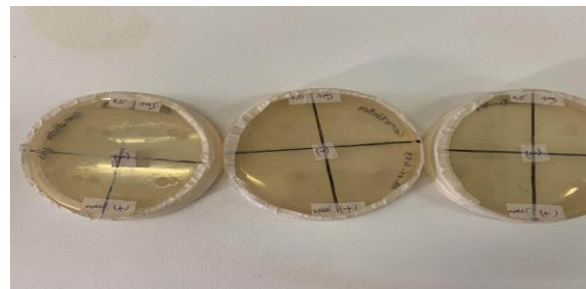


Figure n°26 : Aromatogramme d'extrait de sur la souche bactérienne de *Staphylococcus aureus* (Originale, 2023).

6. Activité antifongique :

En ce qui concerne le champignon, des suspensions de cellules fongiques (*Candida albicans*) est préparée à partir de cultures pures et jeunes, dans de l'eau physiologique stérile.

- Ces suspensions servent à ensemercer sur la gélose Sabouroud (levure).
- Des disques de papiers filtre de 5 mm de diamètre, préalablement stérilisés sont déposés à la surface de géloseensemencée après avoir été chargé de 5 µl l'extrait diluée.
- D'autres disques, chargés de 5 µl d'méthanol sont utilisés comme témoins. Des disques d'antifongiques ont été également utilisés dans ce test comme témoins négatif.
- L'incubation des levures se fait à 37°C pendant 48 heures.



Figure n°27 : *Candida albicans* après 48H d'incubation. (Originale, 2023).



Figure n °28 : Préparation de l'inoculum de *Candida albicans*. (Originale, 2023).

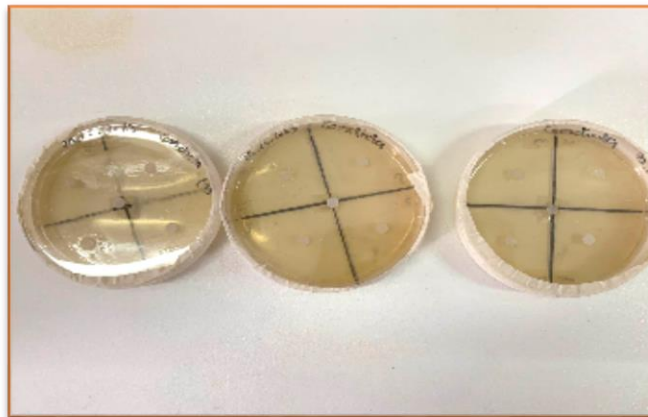


Figure n°29 : Aromatogramme d'extrait de sur la souche fongique de *Candida albicans*. (Originale, 2023).

CHAPITRE

|||

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Extraction des composés phénoliques :

Rendement d'extraction :

Le rendement a été déterminé par rapport à (111,54 g) de matière végétale (feuilles de *Vitex agnus castus L.* Les résultats sont présentés dans le tableau08.

Tableau05: Rendement en pourcentage de l'extraction.

Extrait	R(g)	R(%)
<i>Vitex agnus castus L</i>	16.2g	14.494%

R(%) : rendement en pourcentage R(g) : rendement en gramme

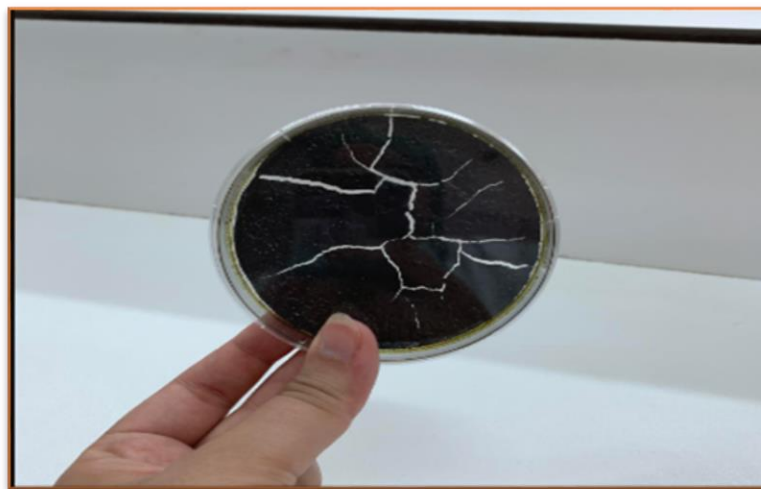


Figure n°30 :L'extrait de *Vitex agnus castus L* (Originale, 2023).

2. Identification des souches bactériennes et fongiques utilisé :

Selon **Barnett et Hunter, (1972)**(in **Alleche, 2017**), et on se basant sur l'étude des caractères macroscopiques (couleur, aspect de colonie et le revers des boîtes ...) et microscopiques (forme, mobilité, et mode de regroupement) des souches bactérienne et fongique isolées, nous avons identifié ces souches bactérienne et fongique sur les milieux (Chapman,Sabouroud,Hektoen).

1.1. Observation macroscopique :

La première étape du diagnostic microbien et du bio typage d'une souche est la description macroscopique des colonies bien isolées. L'observation macroscopique des souches étudiées représenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau06: Observation macroscopique des souches bactérienne et fongique utilisé.

Souche	Forme	Relief	Contour	Taille	Surface	Opacité	Couleur	Consistance
<i>Escherichia coli.</i>	Circulaire	Plate	Régulier	Moyenne	Lisse	Opaque	Orange	Muqueuse
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Circulaire	Plate	Régulier	Moyenne	Lisse	Opaque	Orange	Muqueuse
<i>Streptococcus sp</i>	Circulaire	Plate	Régulier	Petite	Lisse	Opaque	Jaune	Muqueuse
<i>Staphylococcus aureus</i>	Circulaire	Plate	Régulier	Petite	Lisse	Opaque	Jaune	Sèche
<i>Candida albicans</i>	Circulaire	Bombé	Régulier	Moyenne	Lisse	Opaque	Blanche	Crémeuse

2.2 .Observation microscopique :

L'observation macroscopique des souches étudiées représenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau 07: Observation microscopique des souches bactérienne et fongique utilisé.

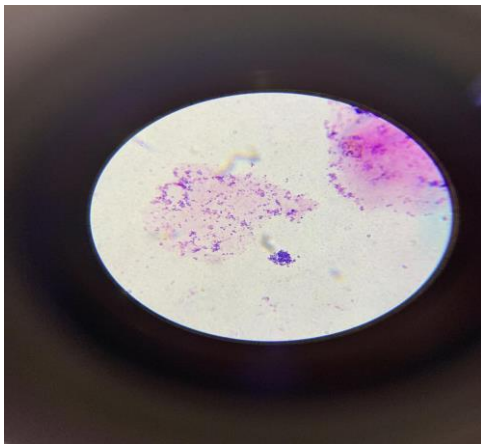
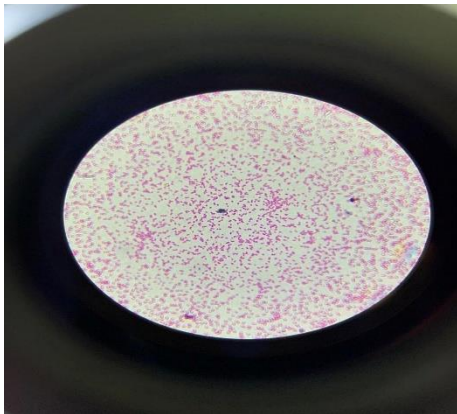
isolat	Mobilité	Forme	Mode de regroupement
<i>Escherichia coli</i>	Mobile	Bâtonnet	isolé
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Immobile	Bâtonnet	isolé
<i>Streptococcus sp</i>	Immobile	Cocci	en chaînettes isolé
<i>Staphylococcus aureus</i>	Immobile	Cocci	diplocoques

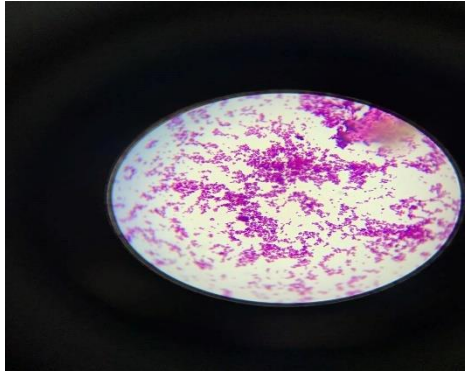
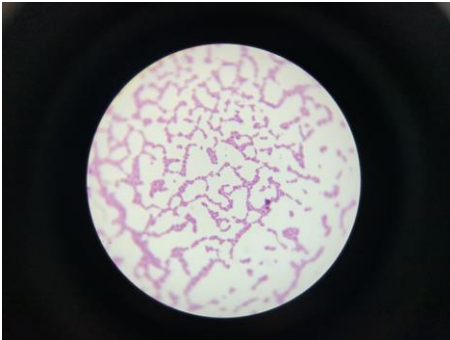
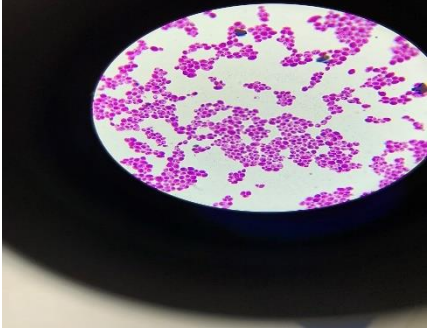
<i>Candida albicans</i>	immobile	Levure	Grappe de raisin
-------------------------	----------	--------	------------------

2.3. Coloration de Gram :

Le tableau ci-dessous représente quelques informations sur les bactéries observées et des images de colorations de Gram:

Tableau08: Observation microscopique de coloration de Gram.

Souche	Photo sous microscope	Gram
<i>Escherichia coli</i>	 <p>Figure n°31 : <i>Escherichia coli</i> sous microscope*100. (Original , 2023)</p>	negatif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	 <p>Figure n°32 : <i>Klebsiella pneumoniae</i> sous microscope *100. (Original, 2023)</p>	negatif

<i>Streptococcus sp</i>	 <p>Figure n°33: <i>Streptococcus sp</i> sous microscope *100. (Original, 2023)</p>	positif
<i>Staphylococcus aureus</i>	 <p>Figure n°34: <i>Staphylococcus aureus</i> sous microscope *100. (Originale, 2023)</p>	positif
<i>Candida albicans</i>	 <p>Figure n°35: <i>Candida albicans</i> sous microscope *100. (Originale, 2023)</p>	positif

3.Évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique :

Selon L'échelle d'estimation de l'activité antifongique est donnée par **Moreira et al., (2005)**, La classification des bactéries et levures se fait dans l'une des catégories suivantes : sensibles ou résistantes.

La souche ayant un diamètre :

- $D < 8 \text{ mm}$: souche résistante (-).
- $9 \text{ mm} \leq D \leq 12 \text{ mm}$: souches sensible (+).
- $14 \text{ mm} \leq D \leq 19 \text{ mm}$: souches très sensibles (++).
- $D \leq 20 \text{ mm}$ souches extrêmes sensibles (+++).

Les résultats concernant l'extraits non concentrés ou dilués (1, 0.25, 0.0625) mg/ml montrent que ce derniers n'a aucun effet antibactérien et antifongique envers la majorité des souches testées.

3.1. Les bactéries à gram négatif :

Concernant l'extrait et les concentrations, des halos d'inhibitions observées. Les résultats notés sont les moyennes des ensembles des diamètres de trois essais pour chaque souche.

Les diamètres des halos d'inhibition (mm) obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 09: Diamètre des halos d'inhibition de l'activité antibactérienne d'extrait sur les bactéries à Gram négatif.

mg/ml		24H				
		1	0.25	0.0625	+	-
<i>Escherichia. coli</i>	B1	na	na	na	10	na
	B2	<8	na	na	8	<8
	B3	<8	<8	<8	10	<8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B1	<8	9	<8	<8	<8
	B2	<8	<8	<8	<8	<8
	B3	<8	<8	<8	<8	<8

na : non active

B : boîte

Selon les résultats obtenus, les souches bactériennes testées sont de résistantes à sensibles vis-à-vis de l'extrait méthanolique de *Vitex agnus castus L.* Cela montre clairement que cet extrait exerce une activité antibactérienne sur une seule souche parmi les quatre souches qu'on a étudié ; avec un diamètre d'inhibition vis-à-vis de la bactérie Gram (+) : *Streptococcus sp* avec une zone d'inhibition pour les concentrations (1, 0.25, 0.0625 mg/ml) de 10mm de moyenne.

En revanche, aucune activité n'a été observée contre les bactéries à Gram négatif, *Klebsiella pneumoniae* (Fig.n°36) et *Escherichia coli* (Fig.n°37)

On ce qui concerne *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* ont des diamètres 9mm de l'extrait de cette plante indiquant une sensibilité des souches (+),

La taille de la zone d'inhibition ne reflète pas la réelle efficacité antibactérienne d'un composé. Ce point était en accord avec les suggestions de **Cimanga et al., in Haddouchi et al., (2018).**

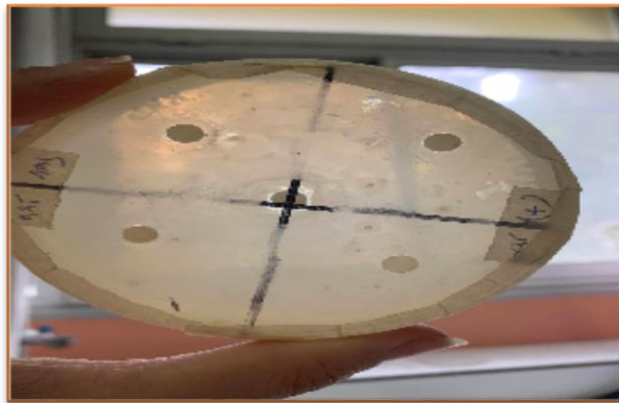


Figure n°36: Halos d’inhibition de l’activité antibactérienne d’extrait sur la bactérie à Gram négatif *Klebsiella pneumoniae* (Originale, 2023).

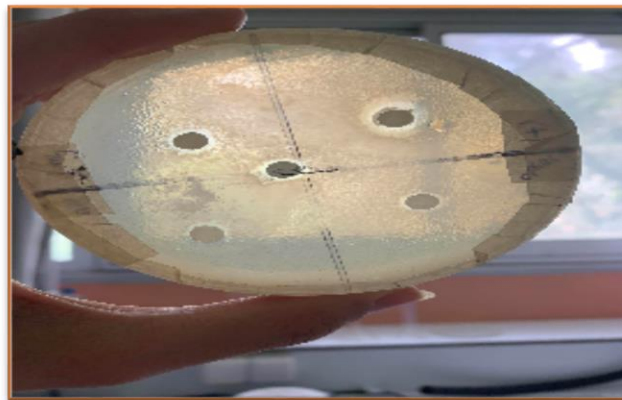


Figure n°37: Halos d’inhibition de l’activité antibactérienne d’extrait sur la bactérie à Gram négatif *Escherichia coli* (Originale, 2023).

3.2. Les bactéries à gram positif :

Tableau 10: Diamètre en mm des halos d’inhibition de l’activité antibactérienne des extraits sur les bactéries à Gram positif.

mg/ml		24H				
		1	0.25	0.0625	+	-
<i>Streptococcus sp</i>	B1	9	10	8	11	<8
	B2	<8	<8	<8	<8	12
	B3	10	<8	<8	14	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	B1	na	<8	<8	9	8
	B2	<8	<8	<8	15	na
	B3	<8	<8	<8	11	12

On observe un meilleur effet antibactérien envers la souche à Gram positif *Streptococcus sp* et *Staphylococcus aureus* avec le contrôle positif de la céphalexine qui présente l'effet maximal d'inhibition.

Pour les autres dilutions de l'extrait, aucune activité n'est observée car le diamètre est inférieur à 8 mm pour *Staphylococcus aureus*, seuil à partir duquel on peut parler d'une activité antibactérienne. Sauf chez la souche *Streptococcus sp* qui montre une activité avec les concentrations (1, 0.25, 0.0625 mg/ml) (Fig.38).

Selon nos résultats l'extrait de *Vitex agnus castus L* présente des zones d'inhibition inférieures à 8mm ; ce qui est représentatif d'une souche résistante (-) pour *Staphylococcus aureus*, et entre 9mm-12mm pour *Streptococcus sp* indiquant sa sensibilité (+) envers l'extrait de *Vitex agnus castus L*.

D'après **Dorman et al., (2000)** et **Djahra et al., (2013)** in **Hedjaz et al., (2017)**. Les composants phénoliques ont une forte activité contre les micro-organismes et dénaturent les protéines. Selon l'étude de **Lambert et al. (2001)**, ces composés phénoliques peuvent se fixer sur certaines protéines et enzymes, modifiant ainsi les équilibres enzymatiques. Selon **Essawi et Srour, (2000)**, l'association des principaux composés chimiques de la camomille actifs potentialiserait l'action antibactérienne.

Selon **Bouhdid et al., (2012)** et **Cvetanović et al.,(2015)**(in **Hedjaz et al., 2017**), la sensibilité des bactéries a été justifiée par la destruction du matériel génétique, ce qui entraîne la mort de la bactérie. D'autre part, les flavonoïdes ont des mécanismes de toxicité par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les adhésines, qui sont des protéines présentes dans les parois cellulaires des micro-organismes (**Basli et al., 2012**).

En se basant sur les résultats de **Hedjaz et al., (2017)**, les valeurs des zones d'inhibition observées sont élevées pour *Staphylococcus aureus*, par rapport au *Streptococcus sp*. On peut justifier cette sensibilité par le faite que la plante étudiée est riche en polyphénols **Romero et al., (2005)** et **Silva et al., (2012)**. En considérant les résultats que nous avons obtenus, l'extrait de méthanol présente des effets antibactériens plus élevés sur les deux bactéries. Ce constat est en accord avec les résultats obtenus par **Lis-Balchin et al., (1998)** et **Mckay et Blumberg,(2006)**, **Mincsovcics et al., (2013)**(in **Hedjaz et al., 2017**) qui ont indiqué que les fleurs de ligature *Matricaria recutita L.* ont montré une activité antibactérienne plus importante contre *Staphylococcus aureus* par rapport aux autres espèces (**Rhayour et al., 2003**).

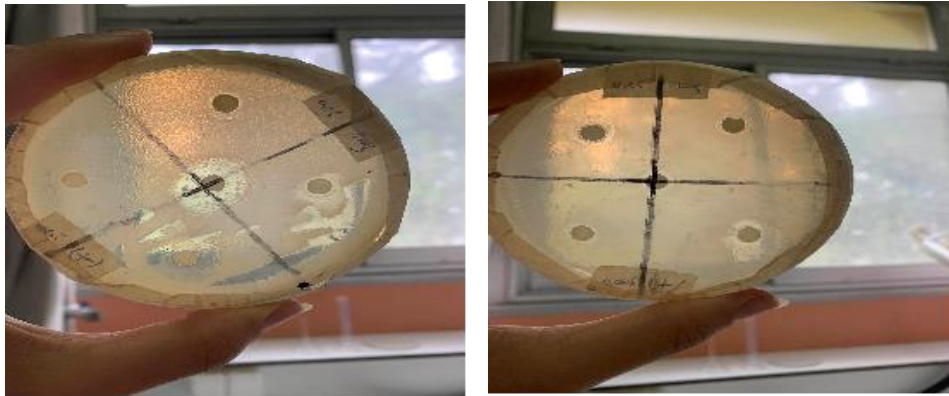


Figure n°38: Halos d'inhibition de l'activité antibactérienne d'extrait sur la bactérie à Gram positif *Streptococcus sp.* (Originale, 2023).

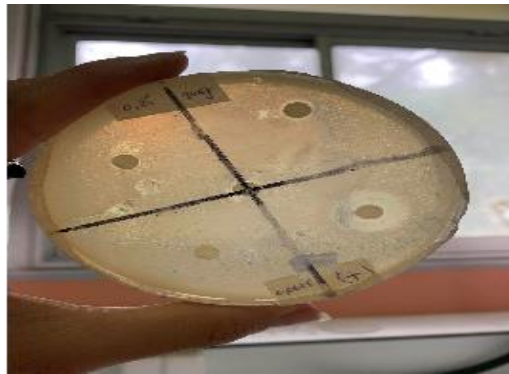


Figure n°39: Halos d'inhibition de l'activité antibactérienne d'extrait sur la bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus* (Originale, 2023).

3.2. *Candida albicans* :

Tableau 11: Diamètre en mm des halos d'inhibition de l'activité antifongique d'extraits sur *Candida albicans*.

mg/ml		48H				
		1	0.25	0.0625	+	-
<i>Candida albicans</i>	B1	<8	<8	<8	<8	<8
	B2	<8	<8	<8	<8	<8
	B3	<8	<8	<8	<8	13

La souche de *Candida albicans* a montré des signes de sensibilité contre le contrôle négative (-), sa zone d'inhibition et d'une valeur de 13mm. Ceci étant, les zones d'inhibition pour l'extrait de *Vitex Agnus castus L* sont toutes inférieures à 8mm ; ce qui indique une résistance de la souche.

La diffusion en milieu solide dont les extraits n'ont montré aucune activité antifongique pour la souche *Candida albicans* très résistante, cependant selon **Slimanou et Sendjakeddin ,(2021)**, les résultats des tests des micro-dilutions ont montré la sensibilité de *Candida albicans* vis-à-vis des extraits de feuilles de *Centaurea calcitrapa* à des concentrations précises et également la résistance de *Candida* à d'autres concentrations. Cela peut être attribué aux conditions de micro dilutions effectuées dans un milieu liquide, qui favorise une meilleure diffusion de l'extrait éthanolique, ce qui lui permet de diffuser et de réagir pour inhiber le champignon.

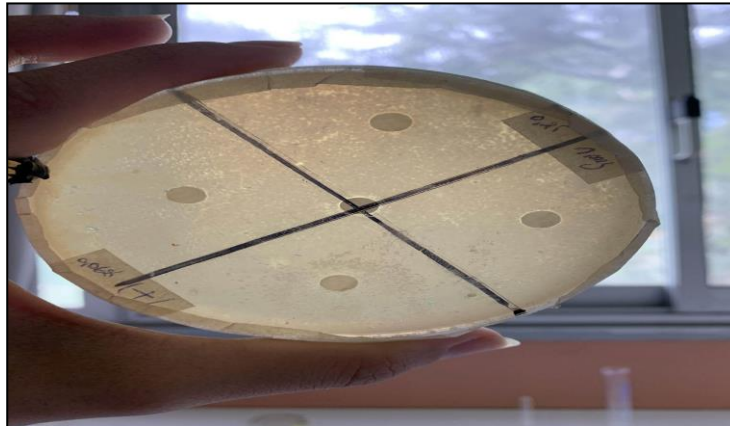


Figure n°40 : Halos d'inhibition de l'activité antifongique de *Candida albicans* (**Originale, 2023**).

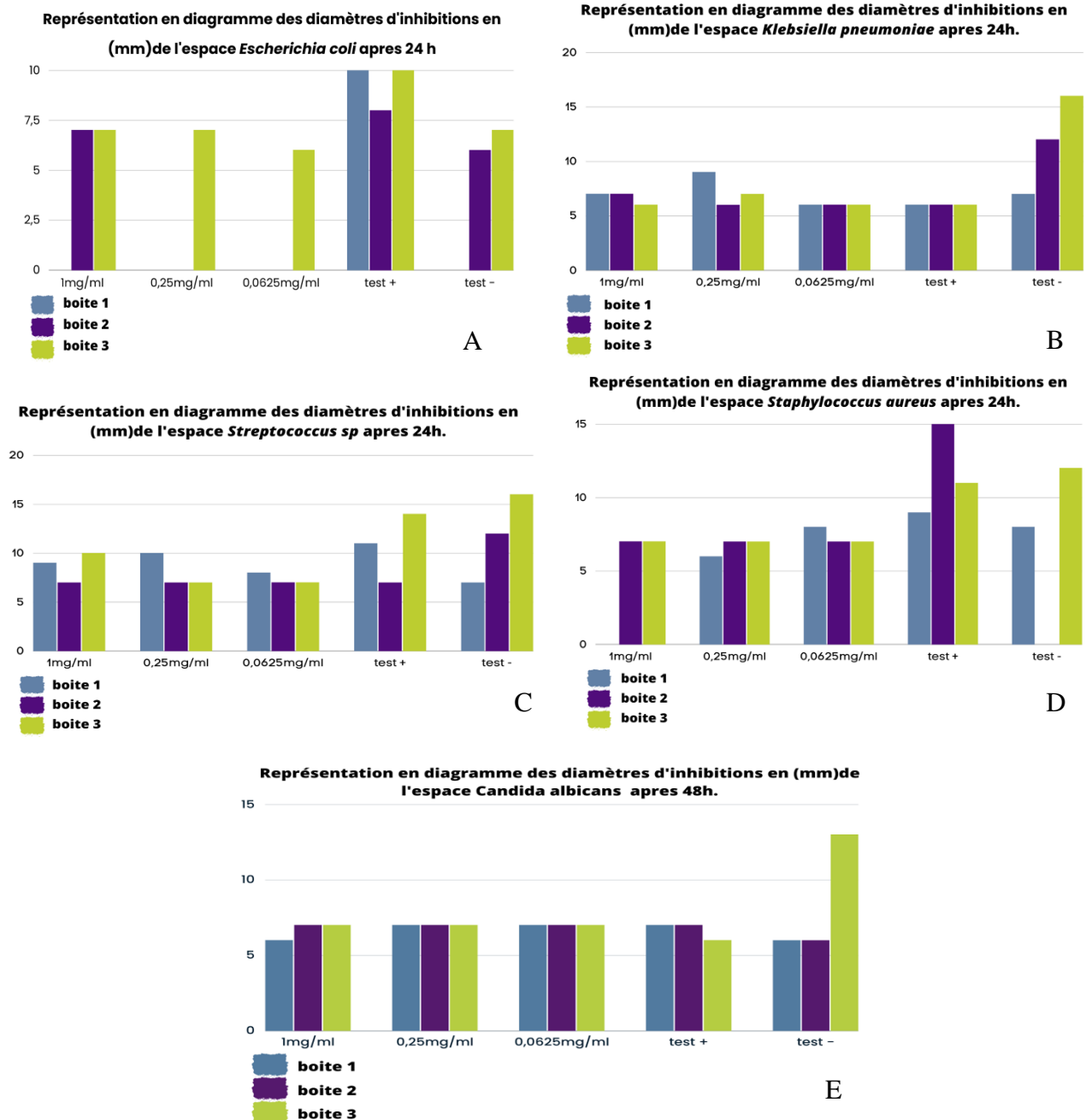


Figure n°41 : Diagrammes représentant les diamètres des halos d'inhibitions en mm de *Vitex agnus castus L* sur les microorganismes.

- A : représentation en diagramme des diamètres d'inhibitions en mm de l'espèce *Escherichia coli*.
- B : représentation en diagramme des diamètres d'inhibitions en mm de l'espèce *klebsiella pneumoniae*.
- C : représentation en diagramme des diamètres d'inhibitions en mm de l'espèce *Streptococcus sp*.
- D : représentation en diagramme des diamètres d'inhibitions en mm de l'espèce *Staphylococcus aureus*.
- E : représentation en diagramme des diamètres d'inhibitions en mm de l'espèce *Candida albicans* apres 48h .

CONCLUSION

Le *Vitex agnus castus L.* ou également connu sous le nom de gattilier, est un arbuste très utile dans les haies et les massifs d'arbustes, ou sa floraison tardive d'un bleu intense est remarquable. Il est idéal pour tous les jardins car il est facile à cultiver et très robuste.

Au cours de notre étude dans le cadre de la valorisation du gattilier nous avons essayé d'étudier les différentes activités antibactérienne et antifongiques du *Vitex Agnus castus L.* afin d'identifier un éventuelle pouvoir médicinale de cette plante sur les bactéries utilisées. Pour la valorisation de *Vitex agnus castus L.* Nous avons fait une extraction méthanolique qui a un meilleur rendement (14.494%). Les concentrations d'extrait de *Vitex agnus castus L.*, dont 1, 0,25, et 0,0625mg/ml sont les concentrations pour lesquelles il y a eu activité sur la souche bactérienne *Streptococcus sp*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*.

Contrairement à *Staphylococcus aureus*, la souche fongique testées *Candida albica* est ralentie par les extraits méthanolique de *Vitex agnus castus L.*

Enfin, l'ensemble des résultats obtenus in vitro ne constitue qu'un premier pas vers la découverte des effets naturels de l'extrait du gattilier. Des essais complémentaires sont nécessaires pour confirmer les résultats obtenus.

Référence Bibliographique

1. Allais, 2008 in Claire MASURE. Le gattilier (vitex agnus castus l.) : interet et utilisation dans le syndrome prémenstruel thèse de docteur en pharmacie. (2018) .p123.
2. Bas E, Recio MC, Manez S et al. New insight into the inhibition of the inflammatory response to experimental delayed-type hypersensitivity reactions in mice by scopolioside A. European journal of pharmacology 2007 ; 555 : 199-210.)
3. Bas E, Recio MC, Manez S. New insight into the inhibition of the inflammatory response to experimental delayed-type hypersensitivity reactions in mice by scopolioside A. European journal of pharmacology 2007 ; 555 : 199-210.
4. 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), p 2-9.
5. Bertone- Johnson ER, Whitcomb BW, Missmer SA et al. Early life emotional, physical, and sexual abuse and the development of premenstrual syndrome : a longitudinal study. *Journal of women's Health* 2014 ; 24.
6. Bouhdid S., Abrini J., Baudoux D., Manresa A., Zhiri, A. (2012). Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan: pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *Journal de Pharmacie Clinique*, 31(3), 141-148
7. Bruneton J. Pharmacognosie. Phytochimie, Plantes médicinales. Editions TEC et DOC, Lavoisier, 4ème édition, 2009, 790-792
8. Castagnou et al., 1964 in Claire MASURE. Le gattilier (vitex agnus castus l.) : interet et utilisation dans le syndrome prémenstruel thèse de docteur en pharmacie. (2018) .p123.
9. Chen S-N, Brent Friesen J, Webster D et al. Phytoconstituent from *Vitex agnus-castus* fruits. *Fitoterapia* 2011 ; 82 : 528-533.
10. Chen S-N, Brent Friesen J, Webster D et al. Phytoconstituent from *Vitex agnus-castus* fruits. *Fitoterapia* 2011 ; 82
11. Claire MASURE. Le gattilier (vitex agnus castus l.) : interet et utilisation dans le syndrome prémenstruel thèse de docteur en pharmacie. (2018) .p123.
12. Courtoy Bernard, *''Section plantes médicinales''*
sur <http://www.lyonhorticole.com/section-plantes-medicinales/> consultée le 22/04/2021 à 13h38, 2013 (Courtoy Bernard se présente comme Architecte paysagiste)

13. Cvetanović A., Švarc-Gajić J., Zeković Z., Savić S., Vulić J., Mašković P., Četković G. (2015). Comparative analysis of antioxidant, antimicrobiological and cytotoxic activities of native and fermented chamomile ligulate flower extracts. *Planta*, 242(3), 721.
14. Di Carlo G, Mascolo N, Izzo A. *Aet* , : Life. Science 1999 ; 65 : 337-353)
15. Djahra A.B., Bordjiba O., Benkherara S. (2013). Extraction séparation et activité bactérienne des tanines de marrube blanc (*Marrubium Vulgare L.*). *Phytothérapie*, 11,348-352.
16. Dorman H. J. D., Deans S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.
17. Dunning Sheila, ‘‘*Summer Blue Flowers Enjoyed by People and Bees*’’ sur <http://nwdistrict.ifas.ufl.edu/hort/2016/06/22/summer-blue-flowers-enjoyed-by-people-and-bees/> consultée le 21/04/2021 à 12h26, 2016 (Dunning Sheila se présente comme agent commerciale d’horticulture).
18. Dupont F, Guignard JL : Botanique : les familles de plantes 2015 ; édition 16
19. Essawi T., Srouf M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* ,70(3), 343-349
20. Gamma et al., 1978 in Claire MASURE. Le gattilier (*Vitex agnus castus l.*): intérêt et utilisation dans le syndrome prémenstruel thèse de docteur en pharmacie. (2018) .p123.
21. GARBONNELLE., DENS F., MARMONIER A., PINON G., et VARGUES R., 1987. Bactériologie médicale Techniques usuelles. SIMEP, Paris. Fran
22. Gruffat Xavier, ‘‘ *Gattilier* ’’, sur <https://www.creapharma.ch/gattilier.htm> consultée le 21/04/2021 à 11h52, 2020 (Gruffat Xavier se présente comme pharmacien)
23. HART T., et SHEARS P., 2002. Atlas de poche de Microbiologie Flammarion Médecine Sciences. Paris, p213.
24. Hoberg E., Meier B., Sticher O.: A new analytical HPLC method for the determination of agnuside and p-hydroxy- benzoic acid contents in *Agni casti fructus*. *Phytochemical Analysis*, 107 in press, 2000b.
25. Hoberg E., Meier B., Sticher O.: Quantitative high performance liquid chromatography analysis of diterpenoids in *Agni-casti fructus*. *Planta med.* 66: 352-355, 2000a.
26. Hu Y, Hou T.T, Zhang Q.Y, Xin H.L, Zheng H.C, Qin L.P, Rahman K. Evaluation of the estrogenic activity of the constituents in the fruits of *Vitex rotundifolia L.* for the potential treatment of premenstrual syndrome. *J. Pharmacol.* 2007 ; 59 :1307-1312.).
27. Jaishree et al., 2010, Jaishree V, Badami S. Antioxydant and hepatoprotective effect of swertiamarin from *Enicostemma axillare* against D-galactosamine induced acute liver damage in rats. *J Ethnopharmacol* 2010 ; 130 : 103-106.

28. Lachance, M., Boekhout, T., Scorzetti, G., Fell, J. W., & Kurtzman, C. P. (2011). *Candida*. In Elsevier eBooks (pp. 987–1278). <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-52149-1.00090-2>
29. Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P.J., Nychas G.J. (2001). A study the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of applied microbiology*, 91(3), 453-426
30. Li et al., 2002; Li S, Zhang H, Qiu S, Niu X, Santarsiero BD, Mesecar AD, Fong HHS, Farnsworth NR, Sun HD. Vitexlactam A, a novel abnatediterpenelactam from the fruits of *Vitex agnuscastus*. *Tetrahedron Lett.* 2002; 43:5131–5134.
31. Lis-Balchin M., Deans S.G., Eaglesham E. (1998). Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. *flavour frag bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. Flavour Fragrance Journal* 13, 98-104.
32. Litré de 1847 à 1865 in Claire MASURE. Le gattilier (*vitex agnus castus* L.): intérêt et utilisation dans le syndrome prémenstruel thèse de docteur en pharmacie. (2018). p123.
33. McKay D.L., Blumberg J.B (2006). A review of the bioactive and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother Res* 20, 510-530.
34. Mincsovcics E., Ott P., Alberti Á., Böszörményi A., Héthelyi É., Szőke, É., Móricz, Á. (2013). In-situ clean-up and OPLC fractionation of chamomile flower extract to search active components by bioautography. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, 26(2), 172-179.
35. NATHALIE VERBEKE., 2006. L'Aromathérapie comme alternative crédible à l'antibiothérapie. Préparatrice en pharmacie, p20
36. Ouali, 2016 in Belhocine Mailis et Cherifi Lydia, Etude phytochimique et cyto histo chimique des pétioles et feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (arbre de vie) et *Vitex agnus castus* L. (gattilier) de la région d'Adrar. master Biotechnologie et Valorisation des Plantes. 2021. p60
37. Quezel, P., Santa, S., Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (2), Paris, Centre National de la Recherche Scientifique, 1963
38. Rhayour K., Bouchikh T., Tantaoui-Elaraki A., Sendide K., Remmal A. (2003). The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Essential Oil Research*, 15(4), 286-292.
39. Romero C.D., Chopin S.F., Gregory Buck G., Martinez E., Garcia M., Bixby L. (2005). Antibacterial properties of common herbal remedies of the southwest. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 253–257.
40. Ruas, 2012 in Belhocine Mailis et Cherifi Lydia, Etude phytochimique et cyto histo chimique des pétioles et feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (arbre de vie) et *Vitex agnus castus* L. (gattilier) de la région d'Adrar. master Biotechnologie et Valorisation des Plantes. 2021. p60

41. Sharma M.L, Rao C.S, Duda P.L. Immunostimulatory activity of Picrorhizakurroaleaf extract. *Ethnopharmacol.* 1994 ; 41 : 185-192.
42. Silva N. C. C., Barbosa L., Seito L. N., Fernandes Junior A. (2012). Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants. *Natural product research*, 26(16), 1510-1514.
43. Tundis R, Loizzo MR, Menichini F et al. Biological and pharmacological activities of iridoids : recent developments 2008 ; 8 : 399-420.
44. Wollenweber E, Mann K. Flavonols from fruits of *Vitex agnus-castus*. *Planta Med.* 1983; 48:126– 127.
45. Wuttke W, Jarry H, Christoffel V, Spengler B, Seidlova-Wuttke D. Chaste tree (*Vitex agnuscastus*): pharmacology and clinical indications. *Phytomedicine.* 2003; 10:348–357. [PubMed: 12809367].
46. Doctissimo, L.R. (2017). Gattilier. https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante_medicinale/gattilier.htm

Références Sites Web (s) :

1. Allais, D. P. (2008). Le gattilier. *Actualités Pharmaceutiques*, 47(479), 49–52. [https://doi.org/10.1016/s0515-3700\(08\)70071-5](https://doi.org/10.1016/s0515-3700(08)70071-5) consulté le :(18/02/2023 :13 :11 :21).
2. Beyonds, E. (n.d.). *GATTILIER: bienfaits, utilisation et précautions d'emploi*. <https://www.mon-herboristerie.com/blog/gattilier-bienfaits-utilisation-et-precautions-demploi/>. consulté le :(10/02/2023 :19:45:54).
3. *Extraction végétale - Berkem - Extraction végétale*. (n.d.). <https://www.berkem.com/fr/expertise/extraction-vegetale> “Marais Ouest” consulté le :(09/03/2023 :03 :27 :14).
4. Fabien Poncet. *Quels sont les principaux terpènes et quelles sont leurs vertus ?* (n.d.). https://www.saveurs-cbd.fr/smartblog/16_tour-dhorizon-des-principaux-terpenes-et-de-l.html consulté le :(03/02/2023 :13 :09 :21).
5. (Lafaurie, L.2023, March 1). Gattilier - Bienfaits, Vertus, Posologie, Effets Secondaires. Nutrimea. [https://www.nutrimea.com/fr/91gattilier#:~:text=Le%20gattilier%20permet%20ainsi%20de,manque%20d'%C3%A9nergie%E2%80%A6\).%20Lise%20Lafaurie%202022](https://www.nutrimea.com/fr/91gattilier#:~:text=Le%20gattilier%20permet%20ainsi%20de,manque%20d'%C3%A9nergie%E2%80%A6).%20Lise%20Lafaurie%202022). consulté le :(18/02/2023 :15:30 :21).
6. Lafaurie, L. (2023b, March 1). *Gattilier - Bienfaits, Vertus, Posologie, Effets Secondaires*. Nutrimea. [https://www.nutrimea.com/fr/91gattilier#:~:text=Le%20gattilier%20permet%20ainsi%20de,manque%20d'%C3%A9nergie%E2%80%A6\).](https://www.nutrimea.com/fr/91gattilier#:~:text=Le%20gattilier%20permet%20ainsi%20de,manque%20d'%C3%A9nergie%E2%80%A6).) Consulté le :(24/02/2023 :15:30 :21).
7. Macheteau, S. (2021). Le gattilier (Vitex agnus-castus) une plante qui aime les femmes ! *L'écolomag*. <https://www.ecolomag.fr/le-gattilier-vitex-agnus-castus-une-plante-qui-aime-les-femmes/>. consulté le :(18/05/2023 :15:30 :21).
8. Macheteau, S. (2021b). Le gattilier (Vitex agnus-castus) une plante qui aime les femmes ! *L'écolomag*. <https://www.ecolomag.fr/le-gattilier-vitex-agnus-castus-une-plante-qui-aime-les-femmes/> consulté le :(16/04/2023 :1&:40 :11).
9. Martinat, L., Gadenne, A., & Saget, I. (2018, February 14). Les fibromes utérins. *Plantes Et Santé*. [https://www.plantes-et-sante.fr/articles/on-en-parle/1197-les-fibromesuterins#:~:text=Le%20gattilier%20\(Vitex%20agnus%2Dcastus,compl%C3%A9ment%20Femiconf%2C%20des%20Laboratoires%20SP.Laure%20Martinat,%20Adeline%20Gadenne,%20Isabelle%20SagetPubli%C3%A9%20le%2015/02/2018](https://www.plantes-et-sante.fr/articles/on-en-parle/1197-les-fibromesuterins#:~:text=Le%20gattilier%20(Vitex%20agnus%2Dcastus,compl%C3%A9ment%20Femiconf%2C%20des%20Laboratoires%20SP.Laure%20Martinat,%20Adeline%20Gadenne,%20Isabelle%20SagetPubli%C3%A9%20le%2015/02/2018). consulté le :(01/03/2023 :31:31:21).

10. PasseportSanté, L. (2021). .Gatillier : quels bienfaits pour la santé ?
<https://www.passeportsante.net/>.
https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=gatillier_p s#:~:text=Historique%20du%20gatillier%20ou%20Vitex&text=On%20dit%20qu'au%20Mo yen,de%20%C2%AB%20poivre%20des%20moins%20%C2%BB.consulté le : (2/06 /2023 :19 :45 :55).
11. *Qu'est-ce que le gatillier ?* (n.d.). Dieti Natura. <https://www.dieti-natura.com/plantes-actifs/gatillier.html>. consulté le :(01/06/2023 :14:30 :44).
12. Sangnier, C. (2023, May 19). *Les composés phénoliques des végétaux*. Neuralia. <https://neuralia.life/composes-phenoliques-des-vegetaux/#:~:text=Les%20compos%C3%A9s%20ph%C3%A9noliques%20des%20v%C3%A9g%C3%A9taux%20appartiennent%20%C3%A0%20la%20grande%20famille,qui%20d%C3%A9finit%20sa%20famille%20chimique>. consulté le :(23/04/2023 :12:30 :21).
13. Sunday Natural. (n.d.). *Huile essentielle de gatillier sauvage*. <https://www.sunday.fr/huile-essentielle-gatillier-v-agnus-castus-bosnie-herzegovine.html> . consulté le :(08/04/2023 :00:13 :56).
14. Bush, L. M., & Vazquez-Pertejo, M. T. (2023, May 25). Infections streptococciques. Édition Professionnelle Du Manuel MSD. <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/cocci-gram-positifs/infectionsstreptococciques#:~:text=Les%20streptocoques%20sont%20des%20microorganismes,varient%20selon%20l'organe%20infect%C3%A9>. consulté le :(12/05/2023 :11:23 :07).
15. *Staphylococcus aureus* Rosenbach, 1884. (n.d.). <https://www.gbif.org/fr/species/144093494>
16. Lachance, M., Boekhout, T., Scorzetti, G., Fell, J. W., & Kurtzman, C. P. (2011). *Candida*. In Elsevier eBooks (pp. 987–1278). <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-52149-1.00090-2>.consulté le :(08/02/2023 :15:30 :21).
17. Giorgetta, J. (2020). Infection : définition, les différents types, traitements. sante.journaldesfemmes.fr. <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2646159-infection-definition-differents-types-traitement-antibiotiques/> . consulté le :(17/05/2023 :01:36:44).

Annexes

Annexe 01 : Récapitulatif global de la composition du gattilier en fonction de la partie étudiée

FRUITS	FEUILLES	SOMMITES FLEURIS	RACINES
--------	----------	---------------------	---------

Terpènes

<ul style="list-style-type: none"> • Huile essentielle Iridoïdes: <ul style="list-style-type: none"> - Aucuboside - Agnuside Diterpènes : <ul style="list-style-type: none"> - Rotundifurane - Vitexilactone - Vitrefolin D - Vitexlactam A - Diterpènes B-111, B-116, B-117 - Clerodadienols 	<ul style="list-style-type: none"> • Huile essentielle Iridoïdes: <ul style="list-style-type: none"> - Aucuboside - Agnuside - Eurostoside 	<ul style="list-style-type: none"> • Huile essentielle Iridoïdes: <ul style="list-style-type: none"> - Aucuboside - Agnuside - Eurostoside - Acide mussaenosidique - Acide 6'-O-p hydroxybenzoylmussaenosidique - Agnucastoside A, B et C. 	
--	--	---	--

<ul style="list-style-type: none"> • Acide p-hydroxybenzoïque Flavonoïdes : <ul style="list-style-type: none"> - Casticine - ChrysosplénolD - Artémésine - 4',5dihydroxy3,3',6,7-tetraméthoxyflavone- - Pendulétine - 3, 6,7,4'-tetramethylether du 6-hydroxykaempférol - Isorhamnétine - Lutéoline - Orientine - Isoorientine 	<ul style="list-style-type: none"> • Flavonoïdes : <ul style="list-style-type: none"> - Casticine - Chrysosplénol - Lutéoline - Orientine - Isoorientine 		Flavonoïdes : <ul style="list-style-type: none"> - Lutéoline -7-O-(6"-pbenzoylglucoside) -6-C-(4"-methyl-6"-Otrans-caffeoylglucoside) de la utéoline -6-C-(6"-O-transcaffeoylglucoside) de la lutéoline -6-C-(2"-o-trans-caffeoylglucoside) de la lutéoline
---	---	--	--

<ul style="list-style-type: none"> - Apigénine - Vitexine - Isovitexine - 3-O-methylkaempferol - 3-methylquercetin - Eupatorine <p><u>Tanins</u></p>	<p><u>Tanins</u></p>	<p><u>Tanins</u></p>	<p><u>Tanins</u></p>
--	----------------------	----------------------	----------------------

Huile grasse			
--------------	--	--	--

Annexe2 : Composition de l'huile essentielle dans le Vitex agnus castus L.

Composés retrouvés en quantité importante et pratiquement toujours présents		
Monoterpènes	Monoterpènes	Sesquiterpènes
Alpha-pinène	1.8-cinéol	(E)-beta-farnésène
Sabinène	Terpinène-4-ol	Beta-
Limonène	Acétate d'alpha-terpinène	Teta-cadino
Mircène	Alpha-terpinéol	Oxide de carvophyllène
P-cymène		Spathuléol
		Allo-aromadendrène
		Lédol
		Aromadendrane-4alpha, 10alpha-diol
Composés retrouvés sporadiquement en quantité importante :		
Beta-phellandrène	Acétate de citronellyl	Globulol
Gamma-terpinène		Bicyclogermacrène
(Z)-ocimène		Germacrène B
Alpha-terpinène		(Z)-beta-farnésène
		Beta-sélinène
		Epi-alpha-cadinol

Annexe 3 : Appareillage, verrerie et consommables

Matériel Technique :

- Balance de précision (SCALTEC SBC 31).
- Plaque chauffante.
- Bain marie.
- Évaporateur rotatif (RE-100 PRO).
- Autoclave.
- Etuve bactériologique (37°C, 30°C).
- Réfrigérateur.
- Bec bunsen.
- Pince métallique.
- Microscope optique.
- Agitateur.

Consommable Et Réactif :

- Bêchers : 100 ml, 250 ml.
- Erlenmeyer 100 ml, 250 ml.
- Tubes à essai.
- Burette 20 ml.
- Pinces.
- Anse de platine.
- Lames en verre et lamelles.
- Écouvillons Stériles.
- Boîtes de pétri stériles.
- Disques d'antibiogramme Stériles de 5mm de diamètre.
- Spatule inox.
- Pipettes Pasteurs.
- Papier filtre.
- huile à immersion.
- kits pour coloration de Gram :(violet de gentiane, lugol, fuchsine) et l'alcool.
- eau distillée stérile.
- gants,
- eau physiologique.
- Méthanol.

Milieu de culture et d'isolement:

➤ **Gélose Hektoen :**

La gélose Hektoen est un environnement distinctif, quelque peu sélectif, utilisé pour l'isolement et la croissance de micro-organismes gastro-intestinaux gram-négatifs, en particulier les espèces de *Shigella* et de *Salmonella* provenant de selles contaminées (échantillons de fleurs mixtes).

➤ **Gélose Muller Hinton(MH) :**

Tous les spécialistes conviennent que le génotype de Muller Hinton est le premier site pour la recherche sur la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et aux sulfamides. (Il crée un excellent environnement de base pour la production de gélose du sang).

➤ **Eau Physiologique.**

➤ **Gélose Chapman :**

Surtout en microbiologie médicale, l'environnement Chapman est un environnement sélectif qui favorise la croissance des germes halophiles. Parmi ces germes, les bactéries *Staphylococcus* se classent en premier, suivies de *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, et quelques-unes des plus inhabituelles.

➤ **Gélose Sabouraud :**

En particulier, les levures, les mousses et les dermatophytes sont cultivés à l'aide de la gélose non sélective Sabouraud, qui est également utilisée en microbiologie médicale. (C'est une gélose glucosée avec un pH légèrement acide pour encourager la culture des champignons.)

Préparation :

• **Solution Mère :**

➤ 1g de l'extrait +10ml d'eau distillé+40ml de méthanol.

A partir de la solution mère on réalise une série de dilution :

1/2mg /ml=1ml(Sm) +9ml (d'eau distillé).

2/1 mg /ml=5ml(S1) +5ml (d'eau distillé).

3/0.5 mg /ml=5ml(S2) +5ml (d'eau distillé).

4/0.25 mg /ml=5ml(S3) +5ml (d'eau distillé).

5/0.125 mg /ml=5ml(S4) +5ml (d'eau distillé).

6/0.0625 mg /ml=5ml(S5) +5ml (d'eau distillé).

Sm : solution mère.

• **Pour le control négatif.**

➤ 40ml de méthanol+10ml d'eau distillé.

• **Pour le contrôle positif.**

• **Antibactérien la céphalexine 0.3mg /l :**

➤ 10ml d'eau distillé+3.486mg céphalexine.

• **Antifongique fluconazole 0.5mg /l :**

➤ 10ml d'eau distillé+14.93mg fluconazole.



Figure n°1 : Antibactérien la céphalexine utilisé comme contrôle positif pour les bactéries



Figure n°2 : Antifongique fluconazole utilisé comme contrôle positif pour les levures



Figure n°3 : ensemencement par inondation sur la gélose Muller – Hinton.

Technique De L'état Frais :

Cas d'un bouillon :

- Déposer une petite goutte de bouillon au centre d'une lame propre.
- Déposer une lamelle sur la goutte en prenant soin que cette dernière ne déborde pas (sinon jeter la lame dans le bac à eau de Javel et recommencer).

NB : La présence de bulles d'air peut aider à faire la mise au point. Observer rapidement au microscope

- En faible luminosité = condenseur en haut, diaphragme fermée, forte intensité lumineuse (lumière grise) ;
- À l'objectif ×40.
- Après l'observation, jeter lame et lamelle dans le bac à eau de Javel (bactéries vivantes).

Cas des colonies isolées :

- Réaliser une suspension dans un bouillon nutritif.
- Placer-la à l'étuve à 37°C pendant 30 minutes environ afin que les bactéries retrouvent leur mobilité.
- Faire ensuite comme précédemment.

Interprétation :

Des bactéries sont considérées mobiles lorsque des trajets très différents sont observés.

Une bactérie immobile est animée de mouvements d'agitation normaux dits mouvements browniens.

Technique de Coloration de Gram :

A partir des boîtes contenant les germes pathogènes on a préparé des suspensions pour Réaliser un frottis et le fixer.

- Plonger la lame dans le violet de gentiane pendant 1 minute.
- Laver la lame à l'eau distillée.
- Plonger la lame dans une solution de lugol pendant 1 minute
- Laver à l'eau distillée
- Décolorer dix secondes à l'alcool.
- Rincer immédiatement à l'eau distillée
- Plonger la lame dans la safranine (ou la fuchsine) phéniquée pendant 1 minute
- Laver la lame à l'eau distillée.
- Sécher la lame en la tamponnant avec du papier Joseph.
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.



Figure n°4 : préparation de coloration de gram pour observation.