REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Par :

Malki meriem

Guellab sabrina

Thème :

La Tuberculose de l'Olivier

Soutenue publiquement le : 2019 /2020, Devant le jury composé de :

BEKDOUCHE. H	MCB	ENS KOUBA	Président
BOUAZZA. F	MAA	UYFM	Examinateur
GHARDAOUI.D	MCA	UYFM	Encadreur
CHAOUATI. K	MCB	UYFM	Co-Encadreur

Année universitaire **2019 /2020**

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut…

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,

L'amour, le respect, la reconnaissance…

Aussi, c'est tout simplement que Je dédie ce Mémoire …

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu le garde dans son vaste paradis ;

Mon Père "Benaissa".

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon coeur, ma vie et on bonheur;

Ma mère "Rabiaa".

Aux personnes qui m'ont énormément aidée et Pour leur soutien morale ;

Mes très chers frères "Ayoub " et "Abdou".

*À toute la famille "**Malki** " .*

*A tous **mes enseignants** depuis mes premières années d'études*

A toutes celles et à tous ceux qui m'aiment…

……MARY……

Dédicaces

Je dédicace ce travail a ***mes chères parents*** *pour votre amour , votre patience et sont toujours pour moi sans limites. Bous m'avez soutenu le long de mes études et vous avez tout sacrifiés.Pour ma réussite, que dieu gardé en bon santé.*

A mes grand-mère et père ***dawia*** *et* ***fatma****.*

Je dédicace ce travail aux étre chére a mon cœur, mon mari mon ameur ***ayoub****.*

A mes souers : ***rekia, samia, houria , imane*** *,et ma petit fille* ***mayssa.***

A mes chère parent : parent de mon mari pour leur soutiens et leurs encouragement.

A tous les membres de ma famille.

A tout la famille de mon mari .

A tous mes chers amis.

....SABRINA...

REMERCIMENT

*Nous remercions "**Allah**" de nous avoir accordé la vie, la chance et le courage d'arriver à ce niveau, après accordé lafilière choisie pour notre formation.*

*Nous remercions notre encadrement **mme Ghardaoui**. Apour abnégation, sa disponibilité chaque fois que nous avons besoin de lui, sa détermination et son sérieuxdans ce travail. Il nous a proposé le projet d'étude et nous a assistés sans cesse jusqu'à la finalisation.*

Aux membres du jury Mm bouazza et mm, pour l'intèrét qu'ils ont portés à notre recherche en acceptant d'éxaminer notre travail et de lenrichir par leurs propositions.

Mercie encore à touts les enseignants de la faculé de science matiére département de chimie pharmaceutique.

Liste des tableaux

N° de tableaux	titre	page
01	principales maladies dues à des insectes ravageurs	08
02	principales maladies fongiques dues à des champignons	09
03	Mesure de la résistance bactérienne	27
04	résultats macroscopiques des quatre isolats	36
05	Résultats de la morphologie des isolats	37
06	Résultats du test de LOPAT	38
07	les résultats de test KOH	38
08	lecture de la galerie API 20 E pour les souches bactériennes à Gram Négatif	40
09	les résultats des cultures à Gram négatif obtenus sur milieux sélectifs	40
10	les résultats de la galerie API20E des souches à Gram positif	43
11	les résultats des cultures à Gram positif obtenus sur milieux sélectifs	44
12	les résultats de lecture d'antibiogramme des souches isolées	46
13	les profils de résistance des souches caractérisées	47
14	Antibiotiques agissant sur la paroi	53
15	Antibiotiques agissant sur la synthèse protéique	55
16	Antibiotiques agissant sur la synthèse des acides nucléiques	57
17	Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique	58
18	Antibiotiques agissant sur la synthèse de l'acide folique	59
19	Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée API20	63

Liste des Figures

N° de tableau	Titre	page
01	Arbre d'olivier	03
02	Taxonomie d'Olea europara	04
03	cycle végétative et cycle reproduction de l'olivier	06
04	Tumeurs formées sur les rameaux et sue les troncs	12
05	la morphologie de Pseudomonas savastanoi	13
06	Mode d'action des antibiotique sur une bactérie	19
07	Les cibles de chaque famille d'antibiotique qui impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie	20
08	Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie	24
09	verger de Sid Ali	28
10	les deux tumeurs utilisées pour l'isolement	29
11	résultat de test KOH de la souche P1T1K2(1)	39
12	aspect macroscopique de la souche P1T1K2(1)'	41
13	l'observation microscopique (100X à immersion) après coloration de Gram de la souche P1T1K2(1), Gram (+) coccobacilles	42
14	résultats de l'identification des isolats P1T1K2(1)' par la galerie API 20^{E}	42
15	résultats de observation microscopique (100X à immersion) après coloration de Gram de la souche P1T1K2(1) ' par la galerie API 20E	42
16	les observations microscopiques (X100) après coloration de Gram des souches P1T1K2(2) Cb, P1T1K2(2) Ct, et P1T1K1(3) respectivement	45
17	les catégories cliniques S, I, R selon les valeurs critiques (Vincent Jarlier DIU Mal Inf)	48
18	l'antibiogramme de la souche Enterobacter cloacae P1T1K2(2), P1T1K2(2)'	49

19	l'antibiogramme de la souche P1T1K1(3)	50

Liste des abréviations

ADH : Arginine Déhydrolase

ADN : Acide Désoxyribo-Nucléique

AHLs : N-acylhomosérine lactones

AIA : Acide Indole Acétique

AMX : Amoxicilline

AN : Amikacine

ARN : acide ribonucléique

ARNm : acide ribonucléique messager

ARNt : acide ribonucléique transférase

ATP : adénosine tri-phosphate.

C : Chloramphenicol

C.O.I: Conseil Oléicole International

C1G: *céphalosporine* 1^{ere} *génération*

CG: *cocci grame*

CIT: Citrate

CMB : concentration minimale bactéricide.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

CS : Colistin

CTX : Cefotaxime+

Gel: Gelatine

GLU: Glucose

GN: Gélose Nutritive

gyr : *gyrase.*

***gyr*B :** sous unité β de l'ADN gyrase.

H2S: Sulfate d'Hydrogène

LAB : lactic Acid bacteria

LDC: Lysine Décarboxylase

PLP : protéine de liaison aux pénicilline

RBAB : résistance bactérienne aux antibiotiques.

RND : Résistance-Nodulation celle Division.

Table des matières

Dédicace

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Abréviation

Résumé

Introduction ……..…..01

Partie I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Généralités sur l'arbre de l'olivier et la tuberculose l'olivier

I-Généralités sur l'arbre de l'olivier……..…..03

1-définition……..03

2-Description morphologique……..03

3-Les formes de l'olivier……..04

- 3.1. L'olivier sauvage……..04
- 3.2. L'olivier domestique……..04

4- Botanique et physiologie de l'olivier……05

- 4.1classification botanique de l'olivier
- 4.2. cycle de développement
- 4.3. cycle végétative annuel……..06

5 - les exigences de l'olivier ……..……..07

6- Les principales maladies d'olivier ……..08

II : la tuberculose d'olivier

1-Définition ……11

2 - les symptômes……..11

3- *caractères généraux de Pseudomonas savastanoi pv. Savastanoi……11*

- 3-1- caractères morphologiques et biochimiques de la bactérie
- 3-2-Caractères génétiques

4-pouvoir pathogène……13

5- classification de pseudomonassavastanoipv.savastanoi_……..14

6- le cycle de la maladie……14

7- impacte de maladie……..15

8- les interactions de pseudemonassavastanoipv avec les autres bactéries……15

Chapitre II : les antibiotiques

I- *Généralités sur les antibiotiques*

1-Définition……18

2-Mode d'action des antibiotiques ……18

3. classification des antibiotiques……20

4- critère de classification des antibiotiques……20

II- Résistance aux antibiotiques

1-Définition……22

- Résistance naturelle ou intrinsèque
- Résistance acquise

2-Mécanismes génétiques de la résistance……..23

- 2.1. Résistance chromosomique
- 2.2. Résistance extra-chromosomique (plasmides)

3-Mécanismes biochimiques de la résistance ……24

- 3.1. Modification de la cible
- 3.2. Modification de la perméabilité
- 3.3. Action des pompes d'efflux
- 3.4. Production d'enzymes inactivant les antibiotiques

Partie II : Expérimentale

III. Matériel et méthodes……28

1. Echantillonnage……29

2. Isolement des échantillons……29

3. Purification et conservation des souches isolées……29

4. Identification phénotypique des isolats……30

4.1. Examen microscopique

4.2. Tests biochimiques

IV. Résultats et Discussion……35

V. Conclusion et perspectives……51

VI. Annexes……..……53

VII.Références bibliographiques ……

.

RESUME

Résumé

L'olivier est parmi les plus anciens arbres fruitiers cultivés principalement dans les pays méditerranéens, cet arbre est bien connu pour son intérêt alimentaire et thérapeutique.

La tuberculose d'olivier est une maladie bactérienne affectant les oliviers (Olea europea L).

L'agent causal est le *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* responsable de la formation des noeuds (galles) sur le tronc et les rameaux. Cette maladie fait des ravages sur l'oléiculture en Algérie.

Le but de ce travail est d'isoler des bactéries à partir des échantillons provenant des tumeurs formés sur les branches des oliviers cultivées dans le verger de Sid Ali commune d'Aïn Roua daira de Bougaa wilaya de Sétif, d'établir le profil phénotypique des espèces microbiennes et tester leur pouvoir de résistance et sensibilité aux antibiotiques.

En se basant sur le test LOPAT et les galeries API 20E, aucun isolat n'a été révélé comme *Pseudomonas savastanoi* pv.savastanoi. Par conséquent, deux bactéries Gram négatives P1T1K2(1) et P1T1K2(1)' ont été identifiées comme *Enterobacter cloaceae*, et deux autres isolats Gram positifs (P1T1K2(2) C_b, P1T1K2(2) C_t) ont été identifiées respectivement comme, *Lactobacillus, Clostridium*, l'isolat P1T1K1(3) a été non identifiée selon les tests biochimiques effectuées.

L'antibiogramme révèle que les souches d'*Enterobacter cloacea*e sont hautement sensible et intermédiaire à la majorité des antibiotiques testés, et résistant a l'amoxicilline, kanamycine,pristinamycine. Alors que les souches *Lactobacillus* et P1T1K1(3) ont été sensible aux douze antibiotiques testés.

Ces tests doivent êtres couplées par des techniques sérologiques ou génomiques pour effectuer la classification jusqu'à l'espèce.

Les mots clés : la tuberculose de l'olivier, tumeurs, galles, *Pseudomonas savastanoi* pv.*Savastanoi, Enterobacter cloacea, Lactobacillus, Clostridium,* verger de Sid Ali, LOPAT,antibiotiques, antibiogramme, phénotypique.

Abstract

The olive tree is one of the oldest fruit trees grown mainly in Mediterranean countries; this tree is well known for its food and therapeutic interests.

The olive knot is a bacterial disease affecting olive trees (Olea europea L). The causative agent is *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* responsible for the formation of knots (galls) on the trunk and twigs. This disease wreaked havoc on olive growing in Algeria.

The purpose of this work is to isolate bacteria from knots formed on the twigs of olive trees grown at Sid Ali Olive Orchad, Ain Roua daira of Bougaa wilaya of Setif, and to establish the phenotypic profile of bacterial isolates and test their power of resistance and antibiotic sensitivity.

Based on LOPAT test and gallery API20E, no isolates have been revealed as *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Therefore, two Gram-negative bacteria P1T1K2(1) and P1T1K2(1)'have been identified as *Enterobacter cloaceae,* and two Gram-positive isolates (P1T1K2(2)Cb and P1T1K2(2)Ct) were identified respectively as *Lactobacillus* and *Clostridium*, the isolateP1T1K1(3) was not identified.

Antimicrobial susceptibility reveals that the *Enterobacter cloacae* strains were highly and intermediate sensitive to the majority of the tested antibiotics, and resistant to amoxicillin, kanamycin and Pristinamycin. While Lactobacillus strain and the isolate P1T1K1(3) were sensitive to all the 12 antibiotics tested.

These tests should becoupled with serological or genomic techniques to perform the classification to the species.

Keywords: olive knot, tumors, gall, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi, Enterobacter cloacea, Lactobacillus, Clostridium*, orchard Sid Ali, LOPAT, antibiotic susceptibility, phenotypic.

ملخص

تعتبر شجرة الزيتون من أقدم الأشجار المثمرة مزروعة أساسا في بلدان البحر الأبيض المتوسط، هذه الشجرة معروفة بفوائدها الغذائية و العلاجية.

Pseudomonas savastanoi pv savastanoi هي بكتيريا ممرضة تصيب أشجار الزيتون و تسبب مرض يسمى سل الزيتون .هده البكتيريا مسؤولة على تشكيل عقد على مستوى الجدع و الأغصان .مما أدى الى تدهور زراعة الزيتون في الجزائر

.الغرض من هذه الدراسة هو عزل البكتيريا من عينات من الأورام تشكلت على فروع أشجار الزيتون المزروعة في بستان سيد علي بلدية عين روى دائرة بوقاعة بولاية سطيف، وأخد لمحة عن النمط الظاهري للأنواع الميكروبية واختبار قوتها من المقاومة والحساسية للمضادات الحيوية.

لذلك نعتمد على اختبار Galerie API 20E ,وLOPAT الذي من خلالهما لم يتم الكشف على *Pseudomonas savastanoi*

اثنان من العزلات سالبة' (1)P1T1K2 ,P1T1K2(1) شخصت على أنها *Enterobacter cloacae*و الثلاث عزل موجبة الجرام شخص اثنان منهاP1T1K2(2) Cb, P1T1K2(2) Ctالجرام على أنهما *Lactobacillus* و) .*Clostritium* على التوالي .و العزلة P1T1K1(3) لم نستطع تشخيصها من خلال هده الاختبارات .

Enterobacter cloacae لها حساسية و حساسية متوسطة لأغلب المضادات التي تم اختبارها ,و مقاومة للأموكسيسيلين,كانامايسين، بريستينامايسين .في حين كانت *Lactobacillus* 3)و)P1T1K1 لهما مقاومة عالية لجميع المضادات الحيوية التي تم اختبارها.

.هذه الاختبارات ينبغي أن نكملها بتقنيات مصلية أو جينية من أجل تحديد أنواع هذه العزلات.

الكلمات المفتاحية : سل الزيتون , ورم *Pseudomonas savastanoi , Enterobacter cloacae* ,

savastanoi pv , LOPAT, *Clostridium ,Lactobacillus*بستان

سيد علي ,مضاد حيوي ,نمط ظاهري

INTRODUCTION

Les plantes constituent la majorité des ressources énergétiques dont dépendent les hommes et les animaux. **(Benizri *et al.,* 2001).**

L'olivier et l'huile d'olive sont cités dans le saint Coran et Hadith comme étant un arbre béni ; un arbre de multiples donations et bienfaits **(Boulssen et Bouraoui, 2016).** La culture de l'olivier en Algérie occupe une superficie totale de 240 000 hectares, repartie sur trois zones oléicoles importante (La zone de la région ouest, La zone de la région centrale du pays, La zone de la région Est). **(DSA., 2010).**

Malheureusement, lorsqu'une plante est atteinte d'une maladie, sa croissance, sa fertilité et sa productivité sont affectées. Des symptômes se développent et tout ou une partie de l'organisme peut mourir. Les agents responsables des maladies de plantes sont très similaires à ceux rencontrés chez l'homme et les animaux. Ils peuvent être biologiques ou physiques **(Benizri *et al.,* 2001).**

Les maladies des plantes sont parfois regroupées par types de symptômes, par type d'organes quelles affectent et par type de plantes affectées, mais le critère le plus utile reste la classification selon le pathogène responsable de la maladie **(Benjama., 2003).**

Comme tous autres champs, le champ d'olivier peut être attaqué par divers bioagresseurs qui sont nocifs pour cette culture en influençant sur la productivité en qualité et en quantité et ainsi que le développement de l'arbre. Ces bioagresseurs peuvent être de

diverses origines, ils peuvent être des arthropodes, des champignons, des bactéries…etc**. (Latef, 2018).**

La tuberculose de l'olivier est la principale maladie bactérienne de l'olivier. Elle est Causée par *Pseudomonas savastanoi* **(Benjama, 1988).** La bactérie s'installe sur les blessures et provoque des tumeurs aériennes sur différentes parties du végétal. La maladie a été observé pour la premier fois par *Savatanoi* en 1870 en Algerie l maladie est traditionnellement connus elle été localisée dans l este vers l'année 1960.

Vu cette importance la lutte contre cette dernière devient une priorité. Nous avons considère qu'il était indispensable de s'intéresser aux problèmes qui peuvent nuire au développement de l'olivier et a sa production .suite a cela nos objectifs étaient devis a confirmée la présence de l'agent causale de cette,maladie *pseudomonas,savastanoi,pv,savastanoi* dans les oléicultures de certain vergers dans la région de Médea , par un diagnostique symptomatiques sur terrain accordé avec un isolement et identification de la bactérie au niveau du laboratoire cette identification est basé sur une série de teste biochimiques et biologiques .

Ainsi la notion de bio et de naturalité ont orienté les recherches vers une lutte alternative par l'utilisation des molécules naturelles extraites de plantes qui révèlent une grande efficacité contre certains microorganismes phytopathogènes.

Pour terminer par une conclusion générale et les perceptives.

CHAPITRE I

Généralités sur L'OLIVIER

I-Généralité sur l'arbre de l'olivier

1-définition :

L'Olivier est l'un des arbres les plus caractéristiques des régions méditerranéennes ; il a une grande importance nutritionnelle, sociale, culturelle et économique sur les populations de cette région où il est largement distribué **(CLARIDGE et WALTON, 1992)**. Immortel et sa durée de vie est très longue : plusieurs fois centenaires voire atteindre un millénaire. Il peut vivre jusqu'à **1000** ans et, si à cet âge canonique on le coupe, il produira immédiatement un rejet qui vivra lui aussi des centaines d'années. Il est parfaitement adapté au climat méditerranéen, En effet, la plupart de la superficie mondiale dédiée à cette culture se trouve, justement, dans le Bassin méditerranéen que se concentrent **95 %** de la production et **85 %** de la consommation mondiale.

Il supporte parfaitement des sécheresses prolongées mais craint les froids trop vifs et l'humidité stagnante. Il a besoin d'un ensoleillement prolongé et les fortes chaleurs de l'été ne lui font pas peur. Néanmoins, un hiver marqué lui est nécessaire pour induire la production de fleurs et donc d'olives. **(1)**

2-Description morphologique

L'olivier est un arbre de **3** à **10** mètres de haut à des branches tortueuses au nombreux rameaux arrondis enchevêtrés les uns dans les autres, les tiges portent des feuilles opposées, entières, ovales allongées, portées par un court pétiole, persistantes, enroulées sur les bords, fleurit entre Mai et Juillet. Donnant des fruits drupes ovoïdes à noyau dur dont le mésocarpe peut renfermer plus de 30% de lipides. Ils sont utilisés par l'industrieagroalimentaire**(Pangol,1975)**.



Figure 1 : Arbre d'olivier. (Image Google)

3-Les formes de l'olivier

3-1-L'olivier sauvage :

C'est un arbre très rameux et épineux à branches quadrangulaires et à feuilles très petites. Ses fruits sont petits et produisent peu d'huile. Cette espèce est bien adaptée aux conditions de stress hydrique, par conséquent elle est utilisée comme porte greffe et dans le reboisement des zones arides et semi arides. Plus rustique, résiste mieux aux excès de température. Sa longévité et les qualités de son bois surpassent celles de l'olivier cultivé. Sa racine pivotante va chercher la nourriture à de grandes profondeurs **(Maillard, 1975)**.

3-2- L'olivier domestique :

Il est constitué par un grand nombre de variétés améliorées, ayant une diversité phénotypique importante et qui donnent une teneur en huile assez variables selon la variété considérée. Estimé actuellement à plus de 2000 variétés d'oliviers recensées dans le monde. Selon la destination des fruits de cet arbre, elles ont été classifiées en variétés à olives de table ou variétés à olives à huile ou variétés dites à deux fins **(Loussert et al ., 1978).**

4- Botanique et physiologie de l'olivier

4-1classification botanique de l'olivier :

L'olivier, de la famille des oléacées, du latin « Olea », son fruit était « Oliva » et le jus que l'on tirait « Oléum » est devenu « huile » après bien des transformations. D'après **(Lazzeri, 2009)** La position taxonomique de l'olivier est la suivante :

- **Embranchement :** Spermaphytes.
- **Sous embranchement :** Angiospermes**.**
- **Classe :** Dicotylédone**s.**
- **Sous classe :** Astéridées.
- **Famille :** Oléacées**.**
- **Genre** : Oléa**.**
- **Espèce :** Oléa européa**.**

Figure 2 : Taxonomie d'Olea europara

4-2- cycle de développement

- **Période de jeunesse :** c'est la période de croissance du jeune plant, elle commence en pépinière pour se terminer au verger, elle est caractérisée par une multiplication cellulaire très active, surtout au niveau du système racinaire. Elle s'étend de la première à la septième année.
- **Période d'entrée en production :** elle s'étend de l'apparition des premières productions fruitières jusqu'à l'aptitude de l'arbre à établir une production régulière et importante
- **Période adulte :** c'est la période de pleine production, car l'olivier atteint sa taille normale de développement ; et il y'a un équilibre entre la végétation et la fructification.
- **Période de sénescence** : C'est la phase de vieillissement qui se caractérise par une diminution progressive des récoltes. **(2)**

4-3-cycle végétative annuel

Le déroulement annuel du cycle végétatif de l'olivier est en étroite relation avec les conditions climatiques de son aire d'adaptation, caractérisée essentiellement par le climat méditerranéen.

Après la période de ralentissement des activités végétatives (repos hivernal) qui s'étend de **novembre à février**, le réveil printanier (**mars-avril**) se manifeste par l'apparition de nouvelles pousses terminales et l'éclosion des bourgeons axillaires, ces derniers, bien différenciés, donneront soit du bois (jeunes pousses), soit des fleurs.

Au fur et à mesure que la température printanière s'adoucit, que les jours s'allongent et l'inflorescence se développe ; la floraison aura lieu en **mai -juin.**

C'est en **juillet –aout** que l'endocarpe se clarifie (durcissement du noyau). Les fruits grossissent pour atteindre leur taille normale fin septembre-octobre. Suivant les variétés, la maturation est plus ou moins rapide.

La récolte s'effectue de la **fin septembre** pour les variétés précoces récoltées en vert, **jusqu'en décembre** pour les variétés tardives à huile.

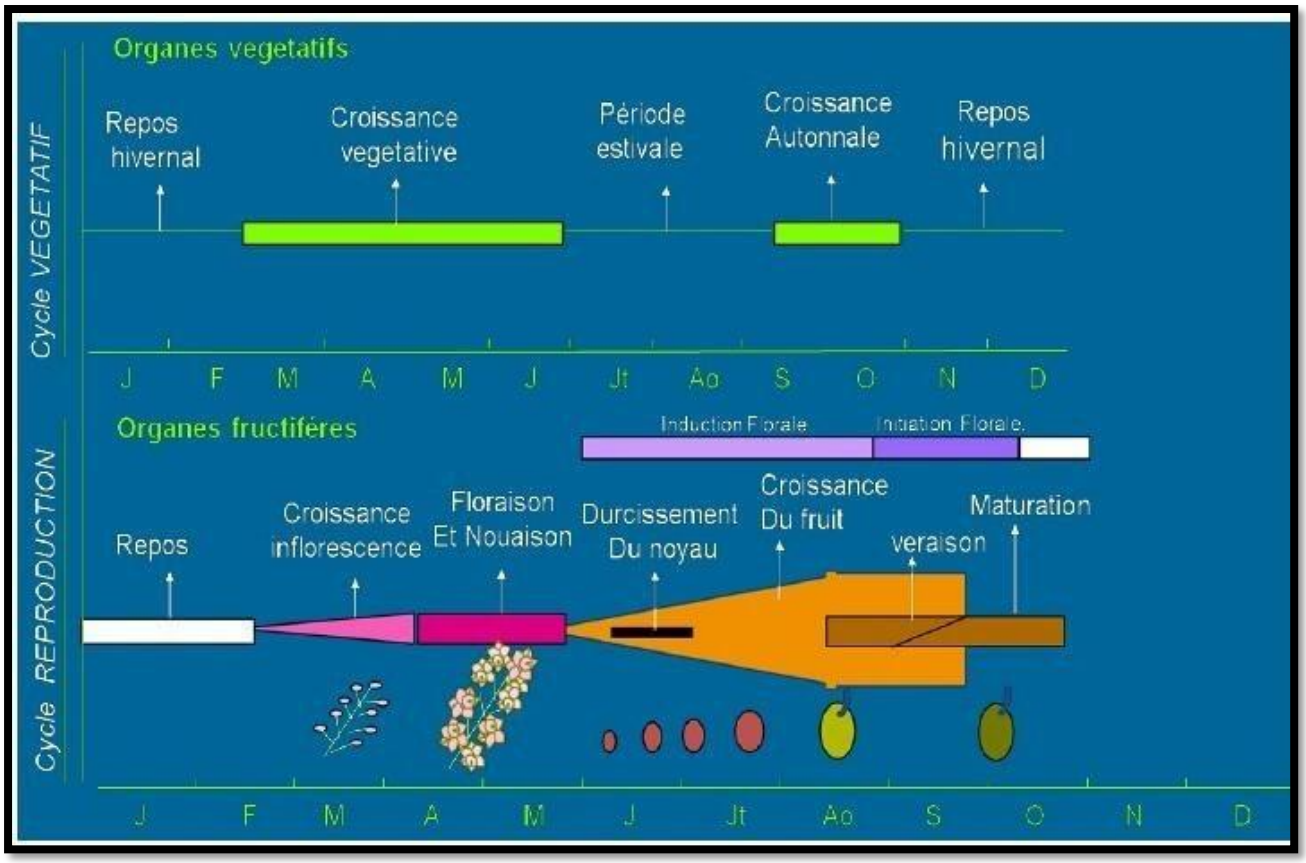


Figure 3 : cycle végétative et cycle reproduction de l'olivier.

(Source : Tous J. 1990, Rallo L. 1998 e Girona 2001).

5 - les exigences de l'olivier :

5-1-Le Climat

✓ La Température

L'olivier craint le froid. Les températures négatives peuvent être dangereuses, si elle se produise au moment de la floraison.

Naturellement comme pour les autres espèces fruitières, la sensibilité de l'olivier aux basses températures sera fonction de :

- L'état végétatif de l'arbre.
- La rapidité de la chute des températures.
- La durée de ces basses températures.
- Conditions climatiques ayant précédé cette période froide.
- L'hygrométrie de l'air.
- La résistance de la variété.

- L'état sanitaire de l'arbre.

✓ **Pluviométrie** :

A moins de 350 mm de pluie la culture sans irrigation ne peut être économiquement rentable.

✓ **Humidité atmosphérique** :

Elle peut être utile dans la mesure où elle n'est pas excessive (+**60%**) ni constante car elle favorise le développement des maladies et des parasites.

✓ **Altitude** :

L'altitude de culture de l'olivier dépend de l'altitude. Les limites à ne pas dépasser sont de 700 à 800 m pour les versants exposés au nord et de 900 à 1000 m pour les versants exposés au sud.

✓ **Autres facteurs climatiques** :

- **Brouillard :** Il est néfaste car il provoque la chute des fleurs (coulure).
- **Neige** : Elle provoque la rupture des branches.
- **Grêle** : Elle détruit les jeunes rameaux**.**

5 -2- Le so**l**

L'olivier s'adapte à tous les types de sols sauf les sols lourds, compactes, humides où se ressuyant mal. Les sols calcaires jusqu'à **pH 8.5** peuvent lui convenir, par contre les sols acides **pH 5.5** sont déconseillés.

5-3- L'Eau

Comme l'eau est un facteur important, les teneurs limites en sels sont :

-De **2 g/l** pour une pluviométrie supérieure à 500 mm

-De **1g/l** pour une pluviométrie inférieure à 500 mm …..**(2)**

6-Les principales maladies d'olivier

<u>Tableau 1</u> : Les principales maladies dues à des insectes ravageurs : (A.SICILIANO, 2016). (I.N.P.V, 2009) .(site2,site3,site4).(Labdaui D ,201).(Ammar, 1986)

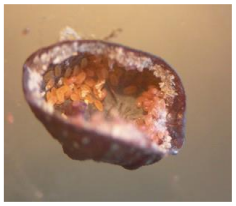
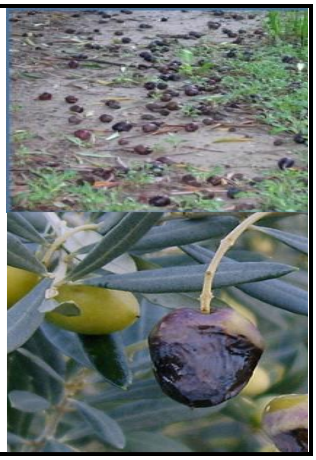
La maladie	Dégât	Lutte	Schéma
La Mouche d'olivier	-Olives véreuses. -perte de récolte. - baisse la qualité.	-Le retournement du sol en hiver pourrait provoquer la mortalité des pupes exposées à la surface du sol. - **Pulvériser** par bandes un insecticide et une substance attractive. (**I.N.P.V, 2009**).	
Le Psylle de l'olivier	-L'insecte **piqueurs-suceur de sève**. -**Spoliation** de sève sont insignifiant. Mais la sécrétion de miellat cotonneux par les laves peut entrainer un développement de fumagine.	-**Aucune lutte chimique**, mais **les auxiliaires** (Anthocorise et Deraeocoris) sont **très efficaces** et limitent les populations jusqu'à rendre insignifiants les dégâts et la présence du psylle. -**insecticide** a base d'un mélange 6g/10L bactosepine.	
La Cochenille noir de l'olivier	-Réduit le caractère de gravité. -Créant un substrat sucré favorable au champignon.	-La préservation de la faune auxiliaire en évitant les traitements chimiques - Vérifié l'effet des hautes températures estivales et l'importance de l'impact de la faune auxiliaire.	 

Tableau 2 : ***principales maladies fongiques "dues à des champignons" : (Bellahcene ,2004).(A. SICILIANO, 2016) (site1).(Nicose et maria, 2005) (Teviotdale et al., 1989) (Amouretti et comet,1988).***

La maladie	Dégât	Lutte	Schéma
La Verticillose (verticillumdahliae)	-**Brunissement** des tissu vasculaires. -**desséchement** des branches (secondaire et principales) des rameaux, accompagnés d'un défoliation importante.	-**Limiter** l'irrigation. - **Supprimer** les branches touchées. - **Gérer** l'enherbement. (il n'existe pas de traitement de cette maladie non mortelle pour l'olivier).	
Oeil de paon ou (Cycloconiu)	-**Chute** des feuilles et des fruits au stade de leur maturation.	-**Tailler** les arbres pour permettre une bonne circulation d'air. -**Eviter** de planter dans les bas-fonds humides. -**Eviter** l'excès d'engrais azoté qui rendrait le tissu plus tendre et plus mince.	
La fumagine ou (noir de l'olivier)	-**Diminution** de la valeur marchande de la production et **affaiblissement total** de l'arbre.	-réaliser au moins un **traitement préventif** avec de la bouillie bordelaise en novembre et en mars - **surveiller** la présence du champignon- examinant les feuilles et sur variétés sensibles le traitement sera renouvelé après chaque pluie de plus de 25 mm **.** - appliquer un traitement insecticide dès l'observation des premières larves de la Cochenille noire.	

Brunissement	-**Pourrissement** des olives et chute prématurée. Perte de récolte et mauvaise qualité d'huile	-**Modérer la taille** bisannuelle. -**Fractionner** les apports de phosphore au printemps, apporter le potassium à l'automne. -**Limiter** la vertilisation en azote.	

II-la tuberculose d'olivier

1-Définition :

La Tuberculose de l'olivier est une bactériose due au *pseudomonas savastanoi*qui infecte le système de circulation de la sève à l'occasion d'une plaie Del 'écorce de bois causée par la grêle, le vent, la chute des feuilles, la taille, le greffage **(Boutkhil, 2017)**. Des excroissances de bois ressemblant à des verrues ou des tumeurs parenchymateuses sur le bois sont des caractéristiques de la maladie.

En cas de forte attaque, les rameaux perdent leur feuillage et se dessèchent, affectant ainsi le rendement et la qualité de l'huile d'olive **(Benyoub, 2010**). La Tuberculose est aussi appelée Chancre bactérien. La maladie peut tuer les arbres si les infections se produisent sur la ceinture et les troncs de jeunes arbres pour cause de blessure de taille.

Cette maladie très contagieuse sur certaines variétés, peut être également transmise par les techniques de multiplications (greffage et bouturage) à partir de rameaux provenant d'arbres contaminés. Cette maladie est parmi celles qui produisent le plus de dommages sur la culture de l'olivier, affectant même la qualité des fruits et donnant naissance à des odeurs indésirables. **(Hall et al, 2004 et Quesada et al, 2008**). Suivant le décret exécutif : **93-286 23/11/1993** *Pseudomonas savastanoi* est considéré comme un parasite de quarantaine **(Serdoun Bekri, 2013).**

2-les symptômes

Le symptôme caractéristique de l'infection est le développement des tumeurs ou "galles" dans les sites d'infection. Les galles sont le plus souvent formées au niveau des sites de développement des bourgeons ; cependant, elles peuvent également être formés à d'autres points d'entrée des agents pathogènes, telles que les plaies de taille ou de blessures causés par le gel ou la grêle **(Boulssen et Bourraoui, 2016)**. La maladie agit sur la croissance des repousses et elle affecte les organes reproducteurs. L'intensité des dégâts provoqués est fortement liée au nombre de tumeurs par arbre ((**Benjama, 2003).** Elle se manifeste par des Tumeurs parenchymateuses à forme irrégulière de couleur vertes au début et à surface lisses. Le nœud d'olive apparait comme galle bruts ou gonflement d'environ 0,5 à 2 cm de diamètre sur les rameaux, branches, troncs principaux et racines. Après quelques mois les galles acquièrent un aspect spongieux et irrégulier, devenant dures et brunes. Ces galles apparaissent

Isolément ou rapprochées sur toute la partie de la plante. Les galles peuvent endommager la structure de la tige et déformer l'échafaud de l'arbre si l'infection est sévère durant les premiers stades du développement des arbres **(Lacobelli, 2001 et Philippe, 2007)**.



Figure 4 : Tumeurs formées sur les rameaux et sue les troncs (www.bio-enligne.com)

3- *caractères généraux de Pseudomonas savastanoi pv. Savastanoi*

3-1- caractères morphologiques et biochimiques de la bactérie

C'est une cellule de forme bâtonnet droit ou bacille de taille moyenne de 0.7-3um de longueurs, et 0.7-1um d'épaisseur, c'est une bactérie mobile qui contient de 1 jusqu'à 3 flagelles polaires ce sont des bactéries à gram négatif dont leur paroi ne retient pas la coloration. Les Pseudomonas sont des aérobies stricts, chimio hétérotrophe, ne possèdent pas de cytochrome oxydase, la plupart des souches des déférents pathovars de Pseudomonas

cultivées sur milieu King B **(King et al, 1934**), produisent un pigment jaune verdâtre qui fluorescent sous la lumière Ultra violète.

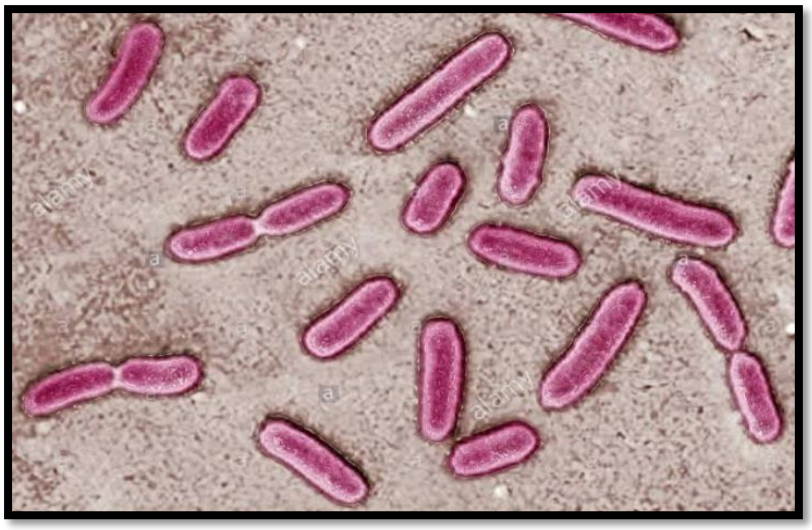


Figure 5 : la morphologie de Pseudomonas savastanoi.

3-2-Caractères génétiques :

Les Pseudomonas sont comme toutes les bactéries caractérisées par la présence de plasmides de poids moléculaires variable, ces plasmides sont conjugatifs et peuvent être porteurs gènes de résistance (**Gouzale et al, 1984**), ils codent aussi les enzymes responsables à la dégradation des cellules épidermiques, sans oublie que le plasmide est le responsable sur l'adaptation des bactéries a des endroits écologiques spécifiques. (**Boucher, 1987).**

4-pouvoir pathogène

L'interaction de la bactérie xylème de la plante à travers les blessures qui se l'arbre. La bactérie adhère sur les rameaux ou les troncs de l'arbre. La bactérie adhère sur la surface de la plante grâce, aux exo-polysaccharide

La stimulation phytohormones est due à un plasmide qu'on l'appelle (Ti) (tumeurs, induisant) qui est transféré dans les tissu végétaux et qui s'intègre dans le génome de la cellule hot pour nouveau ADN formé déclenche une production autonome de phytohormones: l'acide indole-acétique (AIA) qui joue un rôle dans l'élargissement des cellules et le cytokinine qui favorise la division cellulaire **(Serdoun Bekri (2013).**

5- classification de pseudomonassavastanoipv.savastanoi :

Le genre Pseudomonas est classé dans la famille des pseudomonadaceae **(Young, 1996) :**

Règne	**Bactérie.**
Division	Proteobacteria.
Classe	Gammaproteobacteria.
Ordre	Pseudomonadales.
Genre	Pseudomonas.
Espèce	Pseudomonas savastanoi.

6- le cycle de la maladie :

Le cycle de vie de Pseudomonas savastanoi passe par **deux phases** :

6-1-Phase épiphyte :

pseudomonassavastanoipv.savastanoi survit à la fois dans les tissus des tumeurs et comme un épiphyte sur les rameaux, les feuilles et les fruits. Le terme "épiphyte" est dérivé du -épi grec (sur) et phyte (plante), ce qui signifie "sur la plante." Parce que l'agent pathogène survit mieux sur des surfaces d'écorce rugueuse que sur les feuilles, les populations des pathogènes sont plus élevées sur les rameaux que sur les feuilles **(Ercolani, 1993).**La source potentielle de l'infection des plantes saines sont les bactéries épiphyties **(Quesada et al ., 2010).**

La plage de température dans laquelle Pseudomonas savastanoi peut déclencher l'infection se situe entre 5° et 37 ° C et cet intervalle permettrait aux bactéries de causer des infections tout au long de l'année. Cependant, les conditions optimales pour le développement de la maladie sont d'environ 22°-25 ° C et les périodes subséquentes subissent forte probabilité d'infection en l'automne et au printemps **(Protta, 1995)**. Savastanoi pv. savastanoi peut infecter des olivier au tout moment de l'année et la formation des tumeurs se déclenche seulement quand les conditions sont favorables.

6-2-Phase endophyte :

Les bactéries endophytes sont définies comme des bactéries vivant dans les tissus végétaux sans faire un préjudice matériel **(Kado, 1992).**

Certaines rares études ont Savastanoi dans les plantes d'oliviers (**Wilson et al ., 1964**). Selon d'autres auteurs, Psv pourrait également présenter une phase endophytes,

se déplaçant à travers les espaces intercellulaires et même dans les vaisseaux du bois première zone infectée **(Penyalver et al., 2006 ; Wilson et al., 1964 ; Wilson et al., 1979)**.

Les plaies de taille peuvent rester sensibles à l'infection pendant au moins 14 jours. Les cicatrices foliaires, cependant, sont les points les plus communs d pathogènes et peuvent rester sensibles à l'infection jusqu'à 7 jours après la chute des feuilles (abscission).

7- impacte de maladie

Il se traduit sous divers aspects :

- Perte de feuilles des brindilles du fait de l'étranglement mettant hors circuit l'alimentation des feuilles en aval.
- Desséchement de bois par suite d'une photosynthèse défaillante. - réduction même de la taille des arbres
- Réduction du rendement d'olive et sur la qualité de son huile grâce à des caractéristiques organoleptiques inférieures, telles qu'une odeur désagréable et un goût amer **rance (Senhaji, 1999 ; Lavermicocca et al., 2002)**

8- les interactions de pseudemonassavastanoipv avec les autres bactéries :

La grande majorité des bactéries trouvées dans la nature vivent dans des communautés complexes. Les tumeurs de l'olivier sont l'un des communautés complexes ou les espèces bactériennes non pathogènes (par exemple Erwiniatoletana, Pantoeaagglomerans et Erwiniaoleae) coexistent avec l'agent pathogène Pseudomonas savastanoipvsavastanoi et ils forment communément des biofilms multispécifiques **(Rodriguez et al, 2008 , Roberto et al., 2015) ,** Les bactéries dans les biofilms sont sessiles et sont bien protégés contre divers stress, y compris les défenses de l'hôte, cet effet protecteur peut être plus renforcée de manière synergique dans un biofilm multispécifique par rapport à un biofilm monospécifique. La localisation de ces espèces dans le nœud facilite l'échange de signaux et de métabolites de détection de quorum **(Daniel et al., 2014) .**

Les populations de P. pv. savastanoi sont associés à des bactéries non pathogènes, à la fois épiphytes et endophytes, pouvant former des consortiums mutualisme avec Erwiniatoletana, Pantoeaagglomerans, Erwiniaoleae, ces derniers peuvent synthétiser des quantités relativement élevées de l'acide 3-indole acétique (AIA) ce qui pourrait entraîner uneaugmentation significative de la taille des nœuds et de la progression de la maladie **(Comai et al ., 1980).**

L'AIA est aussi synthétiser dans les tissus végétaux, c'est l'auxine naturelle prédominante des plantes. Les auxines sont une classe importante de phytohormones essentiels pour de nombreux l'organogenèse; réponses tropique; processus cellulaires tels que l'expansion cellulaire, la division et la différenciation; et la régulation des gènes.

La localisation de psuedemonassavastanoipv .savastanoi avec E. toletana, Pantoeaagglomerans et Erwiniaoleae qui sont des lactone de N liées à la, Pantoea, y compris saccharose, salicylate et les salicylates et phénols sont impliqués dans la réponse de défense de la plante **(Hosni et al ., 2011)**.

Pseudomonas savastanoipv.savastanoi et Erwiniatoletana mettent une place

Partage symétrique des signaux de de détection de quorum, alors que pseudemonassavastanoipvsavastanoi met en place un partage asymétrique avec Pantoeaagglomerans et Erwiniaoleae. Ces dernières bactéries endophytes produisent avec Pseudomnassavastanoipvsavastanoi des motifs moléculaires associées à des microbes (**MAMPS**;**M**icrobial **A**ssociated **M**olecular **P**atterns) elles sont reconnues par des récepteurs spécifiques de la plante (**site rouge**), qui déclenchent la réponse de défense dans la plante hôte.

Parmi les réponses de défense des plantes, l'accumulation de l'acide salicylique (SA) et d'autres composés phénoliques (par exemple, l'oleuropéine) qui sont catabolisées dans l'espace intercellulaire des tissus de l'olivier par les enzymes présents dans le génome des bactéries endophytes :

1. ß-glucosidase (EC3.2.1.21) ;
2. salicylatehydroxylase (EC1.14.13.1) ;
3. catechol1,2-dioxygenase1(EC1.13.11.1) ;
4. muconatecycloisomerase (EC5.5.1.1) ;
5. muconolactoneisomerase (EC5.3.3.4) ;
6. ß-ketoadipateenol-lactonehydrolase (EC3.1.1.24) ;
7. 3-oxoadipate CoA-transferasesubunit A (EC2.8.3.6) ;
8. acetyl-CoACacyltransferase (EC 2.3.1.16).

Pseudomonas savastanoi pv savastanoi injecte un cocktail de protéines effectrices Dans les cellules d'olive à travers le système de sécrétion de type III (pilusHrp) et *Pantoea*

agglomerans injecte la protéine de défense supressive DspA/E, Les agents pathogènes ont développé plusieurs stratégies qui sont impliquées dans la suppression de la réponse de défense des plantes **(Roberto et al., 2015).**

CHAPITRE II
LES ANTIBIOTIQUES

II-Les antibiotiques :

1. Définition

Une antibiotique c'est une substance antibactérienne naturelle ou synthétique d'origine microbienne ou synthétisée chimiquement, capable d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres micro-organisme par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe, (**Gogny et al ; 2005**) pour qu'il soit actif, un antibiotiques doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (**Ogwara, 1981**).

2. Mode d'action des antibiotiques

A la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques agissant en générale de façon très spécifique sur certain structures de la cellule bactérienne, cette grande spécifique d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés. (***figure1***), **(Mevius et al, 1999 ; Oxoby, 2002).**

Les antibiotiques peuvent agir sur :

- **la paroi :** Bacitracine, Pénicilline et Céhpalosporines agissent sur les germes en croissance inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (murine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité, ce qui lui permet de résister à la forte pression nouvelle bactérie n'est plus protégée entrainant ainsi une lyse bactérienne. **(Zeba 2005)**
- **La membrane cellulaire :** Désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves

- **L'ADN** : certaines familles d'antibiotique empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase. L'actinomycète bloque la progression de l'ARN polymérase.

Les sulfamides provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases en nucléiques (**Flandrois et al 1997**), les quinolones et fluorquinolones inhibent l'ADN gyrase. (**Chopra 1998**)

- **les ribosomes** : ce qui entraine l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéine anormale.
  - Les Aminoglycosides ou Aminosides (streptomycine, gentamycine, amykacine), empêchent la traduction de l'ARNm en se fixant sur la petite sous-unité des ribosomes. (**Hermann2005**)
  - Les Phénicols (chloramphénicol, thiamphénicol) bloquent la formation de la liaison peptidique sur la grosse sous-unité du ribosome bactérien.
  - Les Cyclines (tétracycline, doxycycline) bloquent l'élongation de la chaine peptidique en se fixant sur la petite sous-unité **(flandrois1997)** les macrolides et les kétolides (érythromycine, azithromycine) bloquent l'élongation de la chaine peptidique **(Nilius et Ma2002)**. La puromycine copie l'extrémité d'un ARNt, prend sa place dans le ribosome et bloque l'élongation de la chaine peptidique.

- **Autre** : en agissant entant qu'antimétabolite bactériennes (c'est-à-dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries).

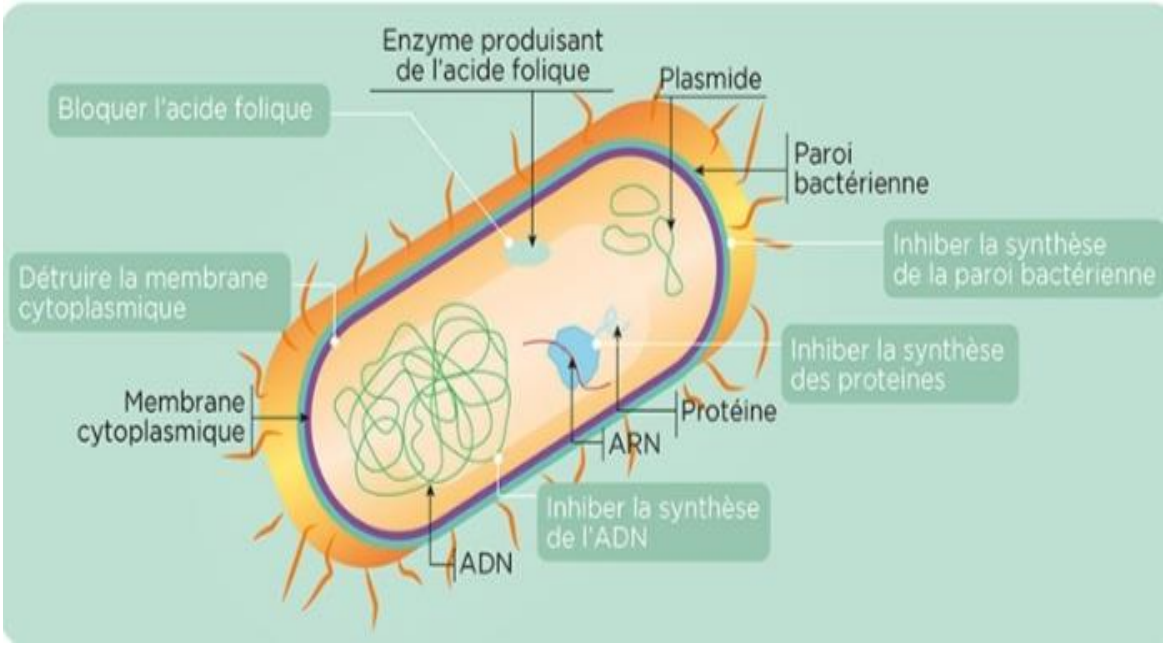


Figure 6 : Mode d'action des Antibiotique sur une bactérie. (3)

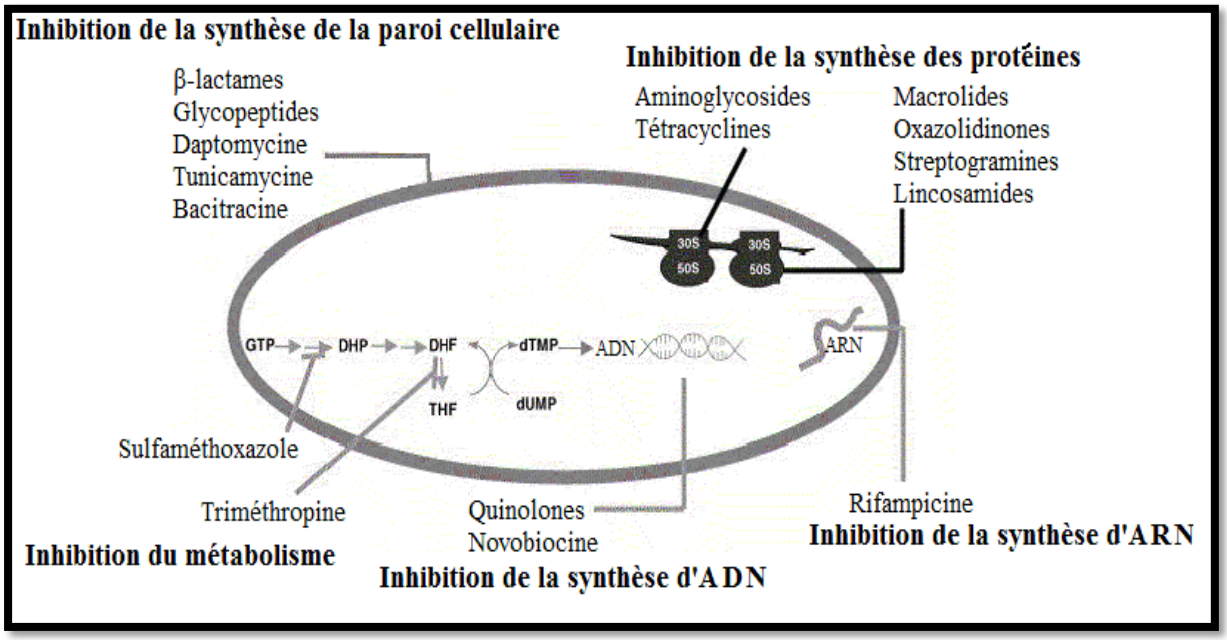


Figure7 : Les cibles de chaque famille d'antibiotique qui impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie.

Avec: [**DHP** : dihydroptéroate ; **DHF** : dihydrofolate ; **THF** : tétrahydrofolate]**.**

(Singh et Barrett, 2006)

3- classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le spectre d'activité et le mécanisme d'action (Yala et *al*., 2001). Selon leur mode d'action, les antibiotiques sont classés en 5 groupes… **(voire l'annexe 01).**

4- critère de classification des antibiotiques: (Newman et al ., 2003 ; Singh et Barett, 2006). (Guinoiseau et al., *2010). (Gogny. M et al., 2001). (Demoré. B, et* al *2012)*

La classification des antibiotiques ce faire selon :

1-L'origine

- **-substances naturelles** issues du métabolisme azoté de divers micro-organismes dont : [20 % de champignons, 70 % d'actinomycètes ,10 % des bactéries (non actinomycètes)]
- -**synthétique** sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances initialement extraites de micro-organismes.
- -**semi-synthétique** sont issus de la modification en laboratoire de substances produites par un micro-organisme.

2-La structure chimique →

Très variable, elle est basée souvent sur une structure de base comme le cycle ß-lactame (famille des Bêta-lactamines) sur laquelle il y a hémi synthèse. Elle donne souvent, le nom à la famille

3-Spectre d'activité : il représente l'ensemble des bactéries sur lesquelles l'antibiotique est actif et permet de prévoir son potentiel ainsi

- **Spectre étroit**: n'atteignant que les bactéries à Gram positif ou les bactéries à Gram négatif.
- **Spectre large**: incluant les bactéries Gram positif et Gram négatif.

4-Effet

- **-bactériostatique** : est l'inhibition de la croissance et de la multiplication du germe, L'activité bactériostatique est indiquée par la détermination de la mesure de la CMI ….. [Voire le tableau 3].
- **- Bactéricide :** est la destruction complète du germe, L'activité bactéricide est indiquée par la détermination de la mesure de la CMB. [voire le tableau 3].

5-Mode d'action

- Paroi bactérienne
- Membrane cytoplasmique
- Synthèses des protéines
- Acides Nucléiques

II. Résistance aux antibiotiques

1. Définition:

La résistance bactérienne est retenue lorsqu'un antibiotique perd sa capacité à inhiber efficacement la croissance bactérienne. Autrement dit, les bactéries continuent de se multiplier en présence de concentrations thérapeutiques d'antibiotiques **(Larry .M et al ., 2017)**.

A ce moment où les microbes deviennent moins sensibles ou résistants, il faut une concentration supérieure à la concentration normale du même médicament pour avoir un effet, condition pas toujours possible in vivo. La résistance aux antibiotiques peut se produire comme un processus de sélection naturelle où la nature permet à toutes les bactéries d'avoir un certain degré de résistance à faible niveau [**Levy SB., 1992**] L'émergence de la résistance aux antimicrobiens a été observée peu de temps après l'introduction de tout antibiotique nouveau **(Levy SB et al ., 2007).**

D'autres définitions sont également retenues pour qualifier :

- Une bactérie est dite résistante quand la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre in vivo sans effet toxique sur la malade.
- une souche bactérienne est dite résistante quand elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce des individus de la même culture.

Ces deux dernières définitions doivent être complétées par deux autres : l'une clinique et l'autre génétique.

- La définition clinique associe la notion de succès et d'échec clinique. En première approximation, une bactérie résistante est une bactérie qui échappe au traitement, ce qui peut se manifester par un échec thérapeutique

On distingue **deux types de résistance** aux antibiotiques, **naturelle** et **acquise.**

a. Résistance naturelle ou intrinsèque :

C'est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes).

(LOZNIEWSKI A et al .,2010)

b. Résistance acquise :

Il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce **(LOZNIEWSKI A et al ., 2010) .**

2. Mécanismes génétiques de la résistance:(LOZNIEWSKI A et al.,2010)

Une bactérie peut acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique.

2.1. Résistance chromosomique

Elle résulte d'une mutation. C'est un phénomène rare, due au hasard et indépendant, Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques. Elle n'est pas provoquée par la présence de l'antibiotique, ce dernier révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes. Elle est transmissible ; et permanente et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie-mère à bactéries-filles).Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique et une bactérie mutée est souvent contre-sélectionnée en l'absence d'antibiotique. **.**

2.2. Résistance extra-chromosomique (plasmides)

Deux faits expliquent l'importance de la résistance plasmidique :

1) La résistance plasmidique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie.
2) de nombreux plasmides de résistance sont conjuguais ou mobilisables ce qui permet un transfert horizontal ; ces transferts sont à l'origine d'une dissémination très importante de la résistance au sein des populations bactériennes. Les plasmides de résistance sont susceptibles d'évoluer par acquisition ou pertes successives de

déterminants de résistance portés par des éléments génétiques transposables. Les éléments génétiques transposables permettent la dissémination de gènes entre des bactéries phylogéniquement éloignées. Comme pour la résistance chromosomique, les gènes de la résistance extra-chromosomique ne sont pas induits par l'utilisation des antibiotiques qui se contentent de sélectionner les bactéries résistantes.

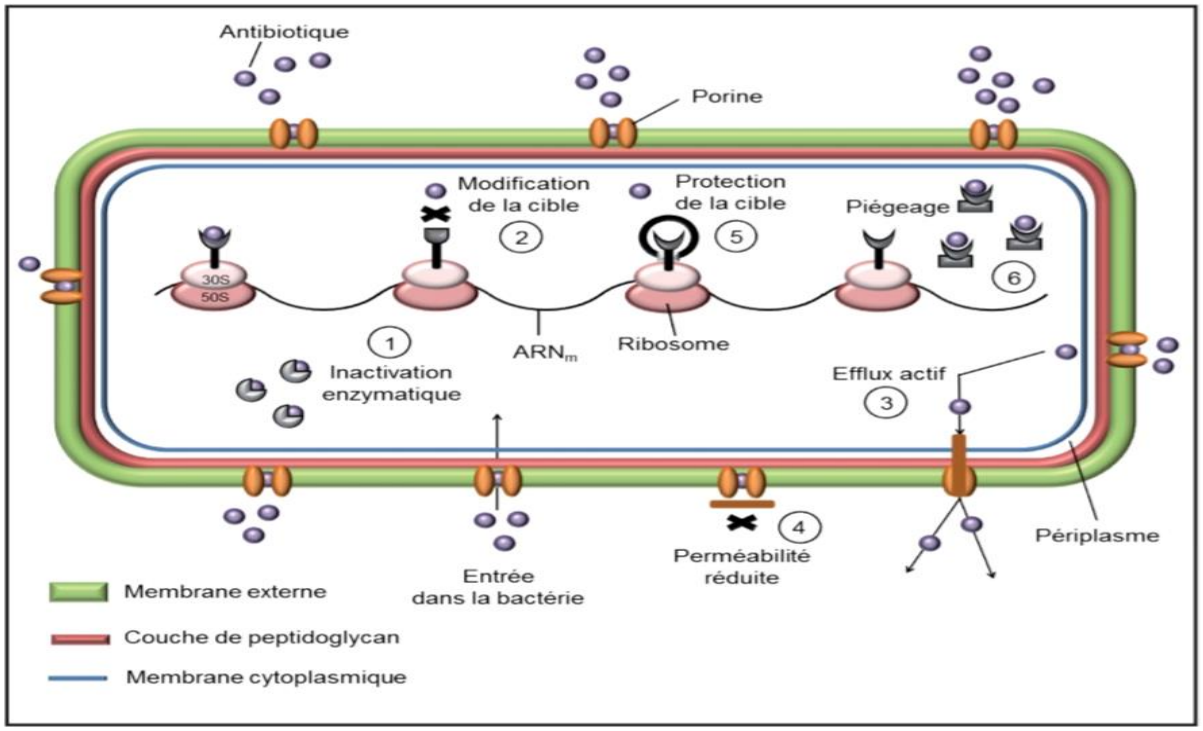


Figure 8: Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative, (adapté de Guardabassi et Courvalin (2006)).

3. Mécanismes biochimiques de la résistance :

3.1. Modification de la cible

Des modifications même minimes affectant la cible d'un antibiotique peuvent modifier et diminuer l'affinité des deux (cible-antibiotique) et entraîner une résistance. La résistance aux β-lactamines par altération des PLP a été décrite, mais ne semble pas être un mécanisme prédominant pour les entérobactéries ou d'autres espèces de bacilles Gram négatif comme *P.aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii*. Ainsi, une résistance aux β-lactamines touchant essentiellement l'imipenème et le mécillinam a pu être décrite chez une souche de *Proteus mirabilis* productrice d'une PLP2 altérée. **(Cavallo et *al.*, 2004)**

La modification d'une des sous-unités de l'ADN grasse (mutation des gènes *gyrA* et *gyrB*) provoque l'acquisition d'une résistance aux quinolones et aux fluorquinolones. **(De Lastours et Fantin, 2010)**

3.2. Modification de la perméabilité

Les changements de la membrane externe des bactéries à Gram négatif peuvent gêner la pénétration de l'antibiotique en l'empêchant d'atteindre sa cible. Ce type de résistance est généralement attribué à la perte ou à la modification des porines. Celui-ci est très répondu chez *Pseudomonas aeruginosa.* **(Maiti et *al.*, 2006)**

La sensibilité aux β-lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles. L'altération des porines par mutation est à l'origine de résistance acquise aux β-lactamines, soit par une modification structurale d'une des porines essentielles, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente. **(Cavallo *et al,* 2004)**

La résistance acquise est d'autant plus forte vis-à-vis des β-lactamines que la molécule est plus volumineuse, plus hydrophobe et chargée négativement **(Cavallo *et al,* 2004).**

3.3. Action des pompes d'efflux

Les pompes d'efflux sont des transporteurs actifs. Il existe 5 familles de pompes d'efflux classées selon deux critères :

- D'une part la source d'énergie nécessaire à leur fonctionnement (gradient électrochimique ou hydrolyse de l'ATP),
- D'autre part leur structure second-tertiaire.

Chez les bactéries à Gram négatif, les systèmes d'efflux sont souvent des complexes protéiques ternaires avec une pompe transmembranaire, une protéine péri plasmique de jonction et une porcine de la membrane externe. Les pompes les plus fréquemment rencontrées sont de type RND (Résistance-Nodulation celle Division) comme AcrB chez *E. coli*, MexB chez *Pseudomonas aeruginosa et* EmrE chez *E. coli*. Les protéines T et A, T et B, T et C, T et D et Tet E sont très largement distribuées chez les *Enterobacteriaceae* et les *Pseudomonadaceae* .**(Cattoir, 2004)**

3.4. Production d'enzymes inactivant les antibiotiques

C'est un mécanisme très fréquent, très important mais aussi très varié. Ces enzymes produites, inactivent l'antibiotique en le modifiant ou en l'hydrolysant. **(Poole, 2004)**

Dans le cas des bacilles Gram négatif, la résistance bactérienne aux β-lactamines est due principalement à la production d'enzymes (β-lactamases) capables d'hydrolyser le noyau β-lactame, inactivant l'antibiotique avant qu'il n'atteigne sa cible (PLP)**. (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).**

L'inactivation enzymatique par des acétyltransférases, des nucléotidyltransférases et des phosphotransférases est le mécanisme de résistance le plus souvent observé pour les aminosides. Il permet d'expliquer la résistance de plus de 95 % des souches d'entérobactéries ainsi que d'*Acinetobacterspp.* Aux aminosides. (**Magnet et Blanchard, 2005)**

Les estérases sont caudées par deux gènes *ereA* et *ereB* portés par des plasmides, elles causent l'ouverture des macrolactones de l'érythromycine et de l'oléandomycine, ces enzymes sont présentes aussi bien chez *E. coli* que chez *Citrobacter*, *Proteus*, *Klebsiella* et *Enterobacter.* **(Katz et Ashley, 2005)**

<u>Tableau 3</u>: Mesure de la résistance bactérienne. (Demoré. B, et al 2012. Mogenet L., Fedida D, 1998).

Effet bactériostatique.		
CMI et CMB	Le rapport CMI / CMB	Famille d'Antibiotique

CMI : concentration minimale inhibitrice : concentration la plus faible d'un antibiotique capable d'empêcher le développement d'un micro-organisme après 18 à 24h d'incubation à 35°C. C'est une valeur indicatrice du pouvoir bactériostatique.	CMB/CMI = 4 à 16	-Tétracyclines -Macrolides - Sulfamides
Effet bactéricide.		
CMB : La concentration minimale létale ou bactéricide (CMB ou CML) : concentration la plus faible capable d'entraîner la mort d'au moins 99,9% des bactéries d'un inoculum standardisé à 105 -106 bactéries/mL (< 0,01% de survivants). C'est une valeur indicatrice du pouvoir bactéricide.	CMB/CMI ≤ 2	-Bêta-lactamines -Aminosides -Colistine -Quinolones
CMB/CMI > 16 Bactérie dit "tolérante" à l'antibiotique. **(Demoré. B, et *al* 2012)**		

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSIONS

III-Matérielle et méthode

1. L'echantionnage :

Deux sorties ont été organisées en collaboration avec l'équipe INPV de Constantine dans le but de diagnostiquer le chancre de l'olivier et réaliser l'échantillonnage.

La première sortie a été réalisée le 08/02/2016 au verger de Belabjaoui située à Chettaba, commune de Ain Smara. L'oléiculteur possède une grande exploitation d'olivier de variétés européenne, bien entretenue et non infectée. Le diagnostic était négatif.

La deuxième destination (le 16/04/2016) était vers le verger de Mr. Alali Mourad, commune d'Aïn Roua daira de Bougaa. Aïn Roua est une commune de la wilaya de Sétif, situé en nord-ouest de l'Algérie, à moins de 28 km du Sétif caractérisé par un climat continental froid et humide à l'hiver et sec humide en été. C'est une zone de haut plateau partiellement montagneuse et contient beaucoup de sources d'eau.

Le verger oléicole de Mr. Alali s'étale sur une superficie de 3 hectares, ce qui présente un nombre de 400 arbres de variété Chemlal infectés à 100%. Les plantes non certifiées ont été achetées à bon prix à partir de deux marchés noirs un à Alger et l'autre à Bejaia. Les prélèvements ont été réalisés à partir de trois oliviers infectés et collectés sur des distances chronologiquement espacées, des petites branches contenant des tumeurs ont été coupées à l'aide d'un sécateur désinfecté à l'alcool 90% après chaque usage. Les échantillons ont été placés dans un sac en papier et transportés directement au laboratoire dans des conditions isothermes de 4°C.



Figure 9 : verger de Sid Ali à Ain Roua, Sétif (Algérie)

2. L'isolement des germes

Deux branches (T1, T2) de la première plante (P1) possédant au moins deux tumeurs (K1, K2) ont été choisi pour l'isolement des bactéries présentes dans les tumeurs.

Les deux tumeurs ont été désinfectées à l'aide d'un papier filtre stérile imbibé a 96%. Le tissu interne a été découpé et les fragments obtenus ont été écrasées dans des tubes eppendorfs stériles contenant un ml d'eau distillée stérile (EDS).

Après trente minutes à température ambiante la technique de trois quadrants sur deux boites de Pétri contenant le milieu semi sélectif le **King B** (Institut pasteur d'Algérie) et deux boites de GN (gélose nutritive), l ensuite incubées à **26°C** pendant **3** à **5** jours.



Figure 10 : les deux tumeurs utilisées pour l'isolement**.**

3. Purification et conservation des souches isolées :

Neuf aspects différents ont été sélectionnés sur les deux milieux "**GN**" (gélose nutritive) et "**King B"** après l'isolement, six souches ont été désignées par le code P1T1K1(1), P1T1K1(2), P1T1K1(3) : isolats prélevés a partir de la tumeur1.

Trois souches ont été désignées par le code suivant sur le milieu **king B**.

P1T1K2(1), P1T1K2(2) : isolats prélevés a partir de la tumeur 2.

P1T1K2(1)' : isolat prélevé à partir de la tumeur 2.

Les colonies qui ont poussé après **72 h d'incubation** à **26°C** ont été purifiées par repiquages successifs sur le milieu GN (gélose nutritive). Une mise en culture en milieu liquide (bouillon

nutritif) a été effectuée pour entamer le contrôle de pureté de la souche et qui consiste à des observations macroscopiques à l'œil nu et microscopiques après coloration de Gram. Une fois un aspect microscopique homogène obtenu, la souche est considérée pure. Les souches obtenues sont ensemencées sur **GN** (gélose nutritive) inclinée puis incubée et conservée à **4°C**.

4. Identification phénotypique des isolats :

L'identification présomptive est basée sur les caractères macroscopiques, morphologiques, biochimiques et sur la détermination du profil de résistance aux antibiotiques (antibiogramme) selon les méthodes mentionnées ci-dessous. La souche E. coli a été utilisée comme souche de référence. La composition des milieux de culture utilisés dans cette étude est mentionnée en "**annexe 02**".

4-1. Examen microscopique des frottis colorés :

Des étalements minces et homogènes de chaque isolat bactérien purons été fixés sur une lame, puis colorés par la méthode de Gram, l'observation a été réalisée sous microscope optique (Optec) avec caméra intégrée (Canon)

4-2. Tests biochimiques

- **Test de LOPAT**

  - **Levane (NAS)**

L'ensemencement se fait par des stries séries sur le milieu levane puis incubées à **26 ° C** pendant **3 à 5 jours**, la production de levane-sucrase se traduit par la présence de colonies blanchâtre et convexes luisante.

La plupart des Pseudomonas fluorescens qui utilisent le saccharose comme seule source de carbone, produisent l'enzyme.

  - **Oxydase**

Le test a été réalisé en utilisant des disques d'oxydase (Himedia laboratoires, Mumbai, India). Un de ces disques a été placé sur une lame, sur celui-ci une colonie bactérienne a été déposée en utilisant une pipette Pasteur stérilisée au préalable. S'il y a apparition d'une tache violette au bout de trente secondes, la bactérie est oxydase positive et elle possède la cytochrome

oxydase. L'absence de la coloration violette est due à l'absence de l'enzyme recherchée, cela indique que la bactérie est dépourvue de cette enzyme respiratoire.

Pectinase

Le test Pectinase permet d'identifier l'activité pectinolytique d'une bactérie c'est-à-dire sa capacité à dégrader la pectine présente dans un milieu de culture spécifique ou des tranches de pomme terre.

Les tranches de pomme de terre sont stérilisées à l'éthanol 70% puis lavées à l'eau distillée stérile et séchées. Les tranches ont été déposées dans une boite de pétri contenant du papier filtre mouillé, des colonies bactériennes fraichement prélevées ont été inoculées au centre des rondelles et incubé à

26° C pendant sept à quatorze jours, l'odeur indésirable et l'apparition de nécrose signifie la présence de l'enzyme pectinase.

Arginine Déhydrolase (ADH)

Les inoculums ont été transférés à un tube stérile de bouillon arginine dihydrolase. Le tube a été incubé à **26 ° C** pendant **3 à 5 jours**.

La bactérie doit utiliser d'abord le glucose présent dans le milieu provoquant une acidification de milieu (traduit par un changement de couleur du milieu violet au jaune). Le virage de la couleur indique un test positif pour l'arginine déhydrolase

L'hypersensibilité sur les feuilles de tabac

1 ml de la suspension bactérienne a été injecté à l'aide d'une seringue dans la nervure principale sur la surface inférieure de la feuille de tabac. Après **3 à 5 jours** à température ambiante on fait la lecture. Le desséchement des zones foliaires inoculées signifie que la bactérie est phytopathogéne.

L'eau distillée stérile a été utilisée comme un témoin négatif

➢ Tests biochimiques

Hugh et Leifson

Chaque isolat bactérien a été ensemencé dans deux tubes contenant le milieu Hugh et Leifson. Après homogénéisation l'un des deux tubes est recouvert d'huile de vaseline en vue de condition d'anaérobiose. Les tubes sont incubés à **26°C** pendant **3 à 5 jours.**

Le résultat positif se traduit par le virage de l'indicateur bleu de bromothymol au jaune du milieu.

Catalase

Sur une lame propre une goutte (**H2O2**) a été déposée, à l'aide d'une pipette Pasteur la colonie bactérienne a été ajoutée, l'apparition des bulles (dégagement gazeux de dioxygène) signifie que la bactérie produit l'enzyme de catalase.

Milieu TSI

La **gélose TSI** (Triple Sugar Iron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène. A l'aide d'une anse de platine une colonie et a été prélevée et ensemencée sur la pente du **milieu TSI** (Triple Sugar Iron Agar, Institut pasteur d'Algérie) par stries et le culot par piqure centrale, puis incubé à **26 C°** pendant **3 à 5 jours**.

Mannitol-mobilité

L'ensemencement du milieu mannitol et mobilité (Institut pasteur d'Algérie) s'est fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une pipette pasteur. Puis **incubé** à **26 C°** durant **3 à 5 jours.** La fermentation du mannitol provoque un virage au jaune du milieu. Les bactéries mobiles envahissent tout le milieu à partir de la piqûre centrale.

Test de solubilité par KOH

Le but de cette méthode est de déterminer rapidement si une bactérie est **gram positive** ou **négative** sans passer par les étapes de coloration habituelles et sans utiliser un microscope. Une colonie isolée a été mélangé dans une goutte d'une solution de KOH à **3%** à l'aide d'une pipette pasteur. Quelques secondes plus tard, on tire le mélange vers le haut; si un filament se

forme entre la pipette et la lame, la colonie isolée est alors constituée de bactéries Gram négatifs. Si rien n'est entraîné par la pipette, les bactéries sont Gram positifs.

Bouillon nitrate

Ce milieu liquide permet de mettre en évidence la présence d'une enzyme du métabolisme énergétique «la nitrate réductase» qui catalyse la réaction de réduction des nitrates en nitrites. Une colonie isolé a été déposé dans le milieu, homogénéiser et incuber à **26°C** pendant **3 à 5 jours**. Après l'incubation les réactifs nitrate de réductase 01 et 02 ont été ajoute respectivement, si il y a changement de couleur jaune vers le rouge indique que la bactérie possède une nitrate-réductase qui est capable de réduire les nitrates jusqu'au stade nitrites. L'absence de coloration rouge ne signifie pas obligatoirement que la bactérie testée ne possède pas de nitrates-réductase en ajoutant la poudre de zinc qui est un composé capable de réduire les ions nitrates en ions nitrites. L'apparition d'une teinte rouge indique la formation d'ions nitrites par l'action du zinc.

Test de fluorescence

Les cultures bactériennes en boite de Pétri du milieu **King B** ont été observées sous une lumière ultraviolette ayant une longueur d'onde de **360 nm** afin de noter la présence ou l'absence de fluorescence.

La galerie API 20

Le système API Biomerieux (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisées et standardisées des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des Bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries.

Les cinq isolats bactériennes ont été identifiés par la galerie API 20E (Biomerieux, SA., Marcy-L'étoile, France), cette dernier comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée, Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période de **3 à 5 jours** d'incubation à **26°C** se traduisent par des virages colorés spontanées ou révélés par l'addition de réactifs **(Annexe 02)**.

Faire une suspension bactérienne faible d'opacité 0,5 sur l'échelle McFarland, dans une ampoule de Suspension Medium à Nacl, ajouter quelque colonie bien isolée prélevée sur un milieu gélosé.

La suspension bactérienne préparée a été introduite dans chaque microtube à l'aide d'une micropipette où la pointe de l'embout est appuyée sur le côté intérieur pour éviter la formation de bulles. Les microtubes des tests CIT, VP et GEL ont été remplis par l'inoculum jusqu'à la cupule alors que les microtubes correspondant aux tests : **ADH**, **LDC**, **ODC**, **H2S** et **UREE** ont été remplis par la suspension bactérienne et recouverts par une couche d'huile de vaseline pour assurer la condition d'anaérobiose. La lecture de ces réactions se fait après incubation à **26°C** pendant **3 à 5 jours**, à l'aide du tableau de lecture (annexe 02), les résultats des réactions obtenues sont notés sur une fiche de résultats standards. Chaque trois test sont rassemblés pour avoir un seule chiffre. L'enchainement des chiffres obtenus après chaque rassemblement constitue un code de sept chiffres qui servira par la suite à l'identification des souches, en faisant usage à un catalogue analytique spécifique de la galerie API 20E.

Le profil de résistance aux antibiotiques :

Un antibiogramme a été réalisé afin de tester la sensibilité ou la résistance des **5 isolats**. Le principe consiste à placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques (disques) sur la culture bactérienne de la souche à tester préalablement. L'ensemencement a été effectué par des stries extrêmement serrées, à l'aide d'une anse de platine stérile sur la surface du milieu Mueller-Hinton en boite de Pétri. Enfin les disques d'antibiotiques ont été appliqués sur la gélose en pressant chaque disque à l'aide de pince bactériologique stérile pour s'assurer de leur application. Les zones d'inhibitions ont été mesurées après incubation à 26°C et comparées avec les valeurs critiques. La liste des antibiotiques utilisés :

Amoxicilline, spiramycine, colistine, amikacine, piperacilline, chloramphenicole, pristinamycine, spectinomycine, cefotaxime, rifampicine, kanamycine, imipeneme .

RESULTATS

ET

DISCUSSION

Les nœuds formés sur l'arbre de l'olivier sont des niches idéales pour la croissance bactérienne non seulement de l'agent causal de la maladie (Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi), mais aussi d'un nombre de Gammaproteobacteria endophytes tels que Erwinia toletana, Pantoea agglomerans et d'autres bactéries des genres Burkholderia, Hafnia, Pseudomonas et Stenotrophomonas (**Marchi et al., 2008; Quesada et al., 2009).**

Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi survit mieux sur les rameaux que sur les feuilles, l'arbre peut être plus sensible à l'infection lors d'événements du printemps de pluie en raison de la disponibilité accrue des cicatrices foliaires fraîches siégeant en tant que tribunaux d'infection, ou les points d'entrée des agents pathogènes. Le mois de Mai, où le taux d'humidité est élevé, est le temps approprié pour réaliser l'échantillonnage.

Afin d'arriver à la caractérisation phénotypique des souches isolées à partir des nœuds prélevés le 16 Avril 2016, le passage par les caractères macroscopiques a été indispensable. Les quatre souches P1T1K1(1), P1T1K1(2), P1T1K1(1)', P1T1K1(2)', après une croissance lente donnant des colonies a des caractères macroscopiques semblent proches des moisissures, la description des colonies a été représentés dans le tableau 04

Tableau 04 : résultats macroscopiques des quatre isolats.

Les souches	P1T1K1(1)	P1T1K1(2)	P1T1K1(1)'	P1T1K1 (2)'
La forme	Des grandes colonies avec des hyphes incrustés dans la gélose produisant de nombreuses conidies créant une surface d'apparence poudreuse	Des petites colonies circulaires avec un court mycélium aérien créant une surface d'apparence cotonneuse	Des grandes colonies avec des hyphes incrustes dans la gélose produisant de nombreuses conidies créant une surface d'apparence poudreuse	Des petites colonies circulaires avec un court mycélium aérien créant une surface d'apparence cotonneuse
l**a coule**ur	Blanchâtre	Blanche	blanchâtre	blanche
L'aspect	plane	Surélevé	plane	surélevé

Les cinq isolats bactériens P1T1K1(3), P1T1K2(1), P1T1K2(2) Cb, P1T1K2(2) Ct, P1T1K2(1)', sont identifiées par les tests définissant les caractères morphologiques (tableau 05).

Les deux souches P1T1K2(1), P1T1K2(1)', sont des coccobacilles, mobiles a Gram négatif. Ces bactéries font partie donc de la famille des Enterobacteriaceae qui sont des bacilles Gram négatif, mobiles (cils périthriches) ou immobiles, aéro-anaérobies facultatifs

Tableau 5: Résultats de la morphologie des isolats.

Caractère	P1T1K1(3)	P1T1K2(1)	P1T1K2(2) Cb		P1T1K2(1)'
Gram	+	-	+	+	-
Aspect	coques	coccoebacilles	bacilles	Long bacilles sporulant	Coccobacilles
Mobilité	-	+	-	-	+

+ : résultat positif - : résultat négatif.

(AAF), oxydase négatif, catalase positif, nitrate positif et non sporulées. Les autres souches sont révélées de Gram positif (P1T1K1(3), P1T1K2(2) Cb, P1T1K2(2) Ct).

Parmi les tests biochimiques importants qui ont été effectués, le test LOPAT qui joue un rôle distinctif et permettent de différencier les souches appartenant au genre de Pseudomonas. Qui sont des bacilles Gram négatif, mobile par ciliature polaire, non sporulant, aérobie stricte.

Tests / Espèces et groupes		Levane	Oxydase	Pectinase	Arginine déshydrolase	Hypersensibilité sur tabac	Fluorescence
Syringae	1 a	+	-	-/+	-	+	+

Les résultats de test LOPAT des cinq souches bactériennes isolées à partir des tumeurs de l'olivier sont mentionnés dans le tableau 06.

Ces résultats ne permet pas de révélés si les bactéries sont phytopathogénes, car le test le test d'hypersensibilité sur les feuilles de tabac n'a pas été effectuée. Le desséchement des zones foliaires inoculées signifie que la bactérie est phytopathogéne.

Tableau 06 : Résultats du test de LOPAT.

Testes	**P1T1K13)**	**P1T1K2(1)**	**P1T1K1(2) Cb**	**PAT1K2(2) Ct**	**P1T1K1(2)'**
Levane	-	+	-	-	+
Oxydase	-	-	-	-	-
Pectinase	+	+	+	+	+
ADH	-	+	-	-	+
L'hypersensibilité sur les feuilles de tabac.	/	/	/	/	/

+ : positif - : négatif / : le test ne réalise pas

Parmi les autres testes qui ont été effectués :

Le **test de fluorescence** utilisé principalement pour la détection et la différenciation des Pseudomonas, Les colonies présentant une fluorescence **jaune verte** détectable sous ultraviolets à360 nm, sont considérées comme positives. La **gélose King B** favorise la production de pyoverdine et inhibe par ailleurs la production de pyocyanine, le phosphate dipotassique augmente la concentration en phosphore apporté par la peptone et stimule ainsi la production de fluorescéine, et le sulfate de magnésium apporte les cations nécessaires à la production de pyoverdine et inhibant la production de pyocyanine.

Les colonies des cinq isolats bactériens ne présentent pas une fluorescence sous une lampe à UV. Les résultats de test de KOH sont représentés dans le tableau 07.

Tableau 07 : les résultats de test KOH

Souches	**P1T1K1 (3)**	**P1T1K2 (1)**	**P1T1K2 (2) Cb**	**P1T1K2 (2) Ct**	**P1T1K2 (1)'**
KOH	-	+	-	-	+

- : l'absence d'un filament + : la présence d'un filament

Les bactéries qui forment un filament entre la lame et l'anse de platine dans les 30 première secondes. Sont des bactéries Gram négatives.

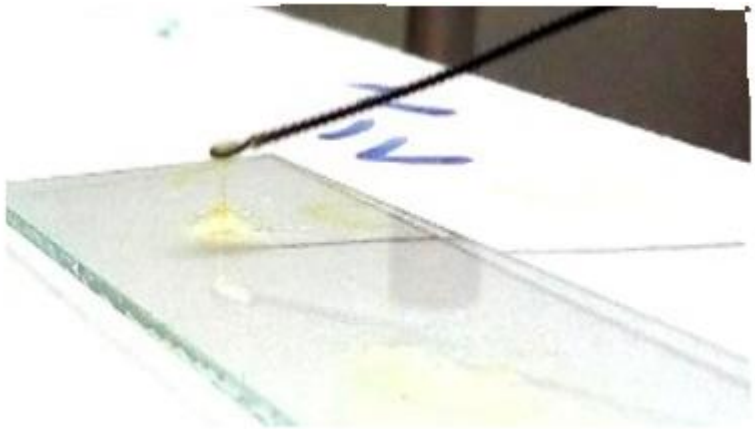


Figure 11 : **résultas de test KOH de la souche P1T1K2 (1)**

Le test de catalase qui à Gram positif.

L'apparition de bulles due à un dégagement gazeux de dioxygène signifie que la souche possède le catalase, métabolisme respiratoire (AS et AAF) qui peuvent détruire les peroxydes. La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation peroxyde d'hydrogène (H2O2 et ½ O2) selon la réaction suivante :

$$2\ H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

La recherche de l'oxydase présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne les bactéries à Gram négatif.

L'apparition d'une tache rose violette après trente secondes signifie que la bactérie possède l'activité oxydase, elle dite oxydase +.

capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN diamine) en un dérivé rose violacé d'oxydation à l'air, le cytochrom oxydase catalyse de reaction du type :

NN-diméthyl -paraphénylène diamine ⟶ produit coloré rose violacé

oxydation rose violacé

L'un des substrats qui peut constituer le réactif d'oxydase peut être l'oxalate de Ntétraméthylparaphénylène diamine.

Les résultats obtenus des tests de catalase et d'oxydase, signifie que les deux souches Gram négatif P1T1K2(1) et P1T1K2(1)' sont réparties dans la famille des Enterobactriaceae. Cela a permis leur identification par la galerie API 20E (tableau 07). Les résultats des mêmes souches obtenus sur les milieux sélectifs TSI ont été pris en considération (tableau 08).

Tableau 8: **la lecture de la galerie API 20 E pour les souches bactériennes à Gram Négatif.**

Souches	**ONPG**	**ADH**	**LDC**	**ODC**	**CTT**	H2S	**URE**	**TDA**	**IND**
P1T1K2(1)	-	+	-	-	+	-	-	-	-
P1T1K2(1)'	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Souches	**VP**	**GEL**	**GLU**	**MAN**	**INO**	**SOR**	**RHA**	**SAC**	**MEL**
P1T1K2(1)	+	-	+	+	-	-	-	+	+
P1T1K2(1)'	+	-	+	+	-	-	-	+	+
Souches	**AMY**	**ARA**	**NO2**	**N2**	**MOB**	**OX**	**CAT**	**OFO**	**OFF**
P1T1K2(1)	+	+	-	+	+	-	+	+	+
P1T1K2(1)'	+	+	-	+	+	-	+	+	+

Tableau 9 : les résultats des cultures à Gram négatif obtenus sur milieux sélectifs.

Souches	**Glucose**	**Lactose /saccharose**	**H2S**	**Gaz**	**Mannitol**
P1T1K2(1)	**+**	**+**	**-**	**-**	**+**
P1T1K2(1)'	**+**	**+**	**-**	**-**	**+**

Sur le milieu sélectif TSI la croissance des isolats P1T1K2(1) et P1T1K2(1)'entraine un changement de la couleur de l'indicateur coloré du milieu du rouge-brun vers le jaune cela est du à une baisse de pH suite à la production d'acide. Les bactéries sont donc saccharose + et/ou

Lactose +, Glucose+, une absence de noircissement signifie la non production d'H2S, ainsi que l'absence d'une déformation de la gélose affirme la non production de gaz.

La lecture des résultats sur milieu mannitol -mobilité a montré que les deux souches-P1T1K2(1) et P1T1K2(1)' ont la capacité de fermenter le sucre mannitol à26°C, cela se traduit par le virage de l'indicateur coloré (rouge de phénol).

D'après le résultat de la coloration de Gram des souches en question (figure 10 catalogue d'identification des API 20 E (figure 12) et selon les résultats des testes biochimiques et morphologiques préalablement obtenus les souches P1T1K2(1) et P1T1K2(1)' ont été identifiées comme Enterobacter cloacae.

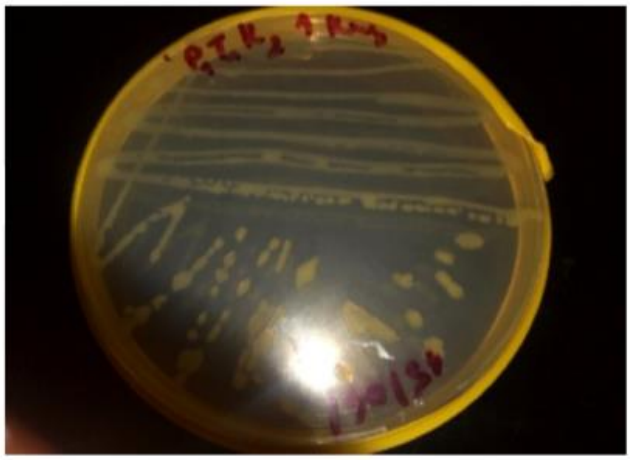


Figure 12 : aspect macroscopique de la Souche P1T1K2(1)'.

L'enterobacter cloacae vit dans l'appareil gastro-intestinal de l'être humain. Il fait partie de la population microbienne normale qui aide à la digestion. Mais parfois, cette des infections, par exemple lorsque les défenses naturelles sont plus basses. D'autres fois, l'infection est une contamination externe. Cette bactérie peut provoquer une infection des voies urinaires, des plaies chirurgicales (infection nosocomiale lorsqu'elle se produit à l'hôpital) et une bactériémie (infection dans le sang).

En 2 014 Passoda Silva a révélé que la classe de Gammaproteobacteria dans les nœuds, représentant jusqu'à 90 % de la population bactérienne totale, en plus des enterobacteriales les bactéries les plus abondantes sont le genre Pantoea.

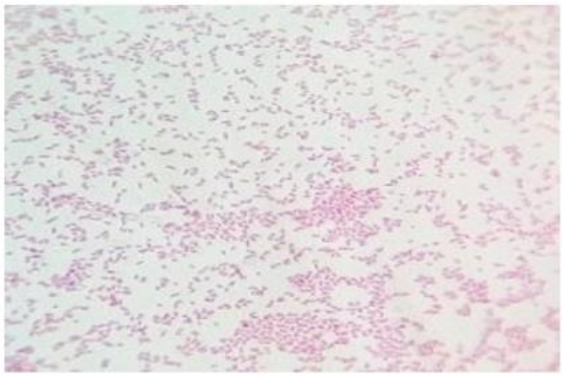


Figure 13 :l'observation microscopique (100 de lasouche observation microscopique (100X à immersion) après coloration de Gram de lasouche P1T1K2(1), Gram (-) coccobacilles.



Figure 14: résultats de l'identification des isolats P1T1K2(1)' par la galerie API 20 E



Figure 15: résultats de observation microscopique (100X à immersion) après coloration de Gram de la souche P1T1K2(1) ' par la galerie API 20E.

Clavibacter, Curtobacterium, Enterobacter, Erwinia, Hymenobacter, Kineococcus, Pectobacterium et Sphingomonas.

Enterobacter cloacae naturellement sensibles et intermédiaire à de nombreux bêtalactamines (par exemple carbapénèmes, aztréonam, acylaminopenicillins, ticarcilline, et certaines céphalosporines «modernes»), quinolones, aminoglycosides, tétracyclines, antifolates, le chloramphénicol et la nitrofurantoïne. Résistance naturelle uniforme a été trouvé dans benzylpénicilline, oxacilline, amoxicilline, amoxicilline / clavulanate, céfoxitine, rifampicine, lincosamides, glycopeptides, streptogramines et l'acide fusidique.

Les résultats des tests biochimiques obtenus avec les autres souches qui appartiennent aux bactéries Gram positive sont été regroupés ensemble dans le tableau (10).

Tableau 10 : **les résultats de la galerie API20E des souches à Gram positif.**

Souches	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE
P1T1K1(3)	+	-	-	-	-	-	-
P1T1K2(2) Cb	-	-	-	-	-	-	-
P1T1K2(2) Ct	+	-	-	-	-	-	-
Souches	**VP**	**GEL**	**GLU**	**MAN**	**INO**	**SOR**	**RHA**
P1T1K1(3)	+	-	+	+	+	+	+
P1T1K2(2) Cb	-	-	+	-	-	-	-
P1T1K2(2) Ct	+	-	+	+	+	+	+
Souches	**AMY**	**ARA**	**NO2**	**MOB**	**N2**	**OX**	**CAT**
P1T1K1(3)	+	+	-	+	-	-	-
P1T1K2(2) Cb	+	+	-	+	-	-	-
P1T1K2(2) Ct	+	+	-	+	-	-	-

Les résultats de ces mêmes souches obtenus sur les milieux sélectifs TSI ont été pris en considération (tableau 11). Les bactéries à Gram positif n'ont pas la capacité de former un filament visqueux. Cela a été confirmé par l'observation microscopique des isolats (figure 16). Ces souches à Gram positif n'ont pas pu être identifiées par la galerie biochimique API20E destinée principalement à l'identification des

de l'ensemencement de la galerie API20E ont été pris en considération. Il y a une possibilité de prédire les genres auxquels appartiennent ces souches à Gram positif en s'appuyant sur des organigrammes de Bergey's manual.

- La souche P1T1K2(2) Cb représente des gros bacilles catalase négative, oxydase négative, des critères applicables au genre Lactobacillus.

- La souche P1T1K2(2) Ct représente des long bacilles sporulant catalase négative, oxydase négative, des critères applicables au genre Clostridium.

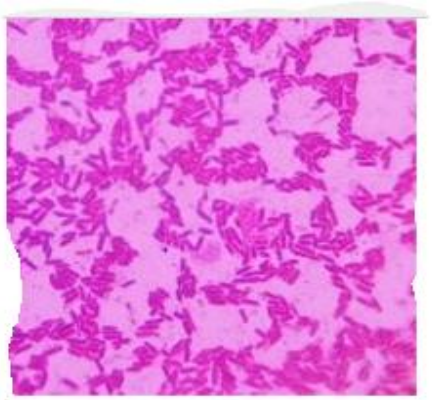
- La souche P1T1K1(3) représente des gros bacilles, catalase négative, oxydase négative, cet isolat a été non identifiée selon les tests biochimiques utilisées.

Les lactobacillus (terme scientifique d'origine latine désignant les lactobacilles) sont des bactéries présentes en quantités importantes dans l'organisme. Les lactobacillus se retrouvent dans les muqueuses intestinales, buccales et vaginales, sur certaines plantes, et aliments d'origine végétale. Ce genre de bactérie est particulièrement présent dans les produits fermentés et les eaux usées. Les lactobacillus ne sont jamais pathogénes.

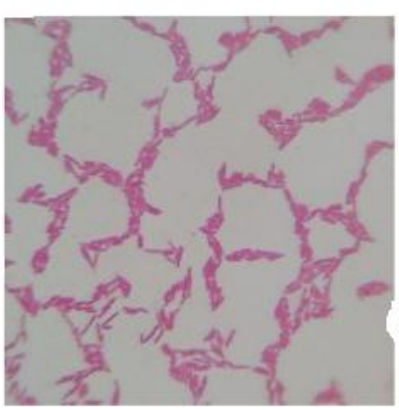
En 2013, Dilek Heperkana détecté la présence de Lactobacillus dans le microbiote d'olives pendant la fermentation. Ce genre prédominant joue un rôle maj Ce genre prédominant joue un rôle majeur dans la production d'olives de table naturelles.

Tableau 11 : les résultats des cultures à Gram positif obtenus sur milieux sélectifs.

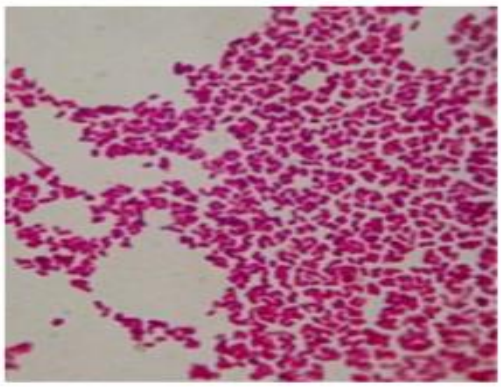
Souches	Glucose	Lactose/saccharose	H2S	Gaz	Mannitol
P1T1K2(2) Cb	-	-	-	-	-
P1T1K2(2) Ct	-	-	-	-	+
P1T1K1(3)	-	-	-	-	+



P1T1K2(2) Cb



P1T1K2(2)) Ct



P1T1K1(3)

Figure 16 : les observations microscopiques (X100) après coloration de Gram des P1T1K2(2) Cb, P1T1K2(2) Ct, et P1T1K1(3) respectivement.

D'après les résultats obtenus, Clostridium est une bactérie de type bacille, Gram positif et sporulé. Elle représente la première cause de diarrhées infectieuses l'adulte. Leur habitat naturel est le sol ou le tube digestif des animaux et de l'homme,

Macergens sont des bactéries capable de libérer des enzymes pectique (bactéries pectolytiques), ces action enzymatique donnent lieu à la séparation des tissus végétaux, les masergens appartiennent principalement au genre Eruinia et a une gamme d'agent pathogène Xanthomonasspp ; pseudomonas spp ; Clostridium spp il se composent de taxons qui affichent une hétérogénéité considérable et entre mêlées avec des membres d'autres genres appartenant à la famille des Entroba ,Chez les bactéries Gram positives l'analyse

phénotypique reste insuffisante pour pouvoir se prononcer au niveau de l'espèce, cependant certains germes ont pu être identifiés par les analyses génomiques.

Un antibiogramme permet de tester sur milieu de culture l'action dune molécules d'antibiotiques sur une souche bactérienne, il donnera donc des indications sur l'efficacité in vitro de ces antibiotiques. Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode standard, la culture bactérienne est ensemencée à la surface d'une gélose Mueller-Hinton. Des disques de papier buvardpré-imprégnés d'une quantité connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose.

L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant une zone d'inhibition. Mesurées les diamètres d'inhibition avec une règle graduée (mm) en les comparants avec les valeurs de références permettent de définir la catégorie de la souche étudiée.

Tableau 12 : les résultats de lecture d'antibiogramme des souches isolées

ATB / souche	**P1T1K2(1)**	**P1T1K1(1)'**
Amoxicilline (AMX)	14	14
Spiramycine (SP)	18	18
Colistine (CS)	20	20
Amikacine (AN)	20	20
Piperacilline (PIP)	20	20
Chloramphenicol (C)	25	25
Pristinamycine (PT)	10	10
Spectinomycine (SPT)	Abs	Abs
Cefotaxime (CTX)	Abs	Abs
Rifampicine (RA)	16	16
Kanamycine (K)	13	13
Imipenem (IPM)	Abs	Abs

abs : absence d'une zone inhibitrice

D'après les résultats obtenus et en comparant les valeurs mesurées avec les diamètres critiques (figure), on peut classer les souches bactériennes selon leurs diamètres d'inhibition pour chaque antibiotique en trois catégories bien définis (tableau 12).

Tableau 13 : **les profils de résistance des souches caractérisées.**

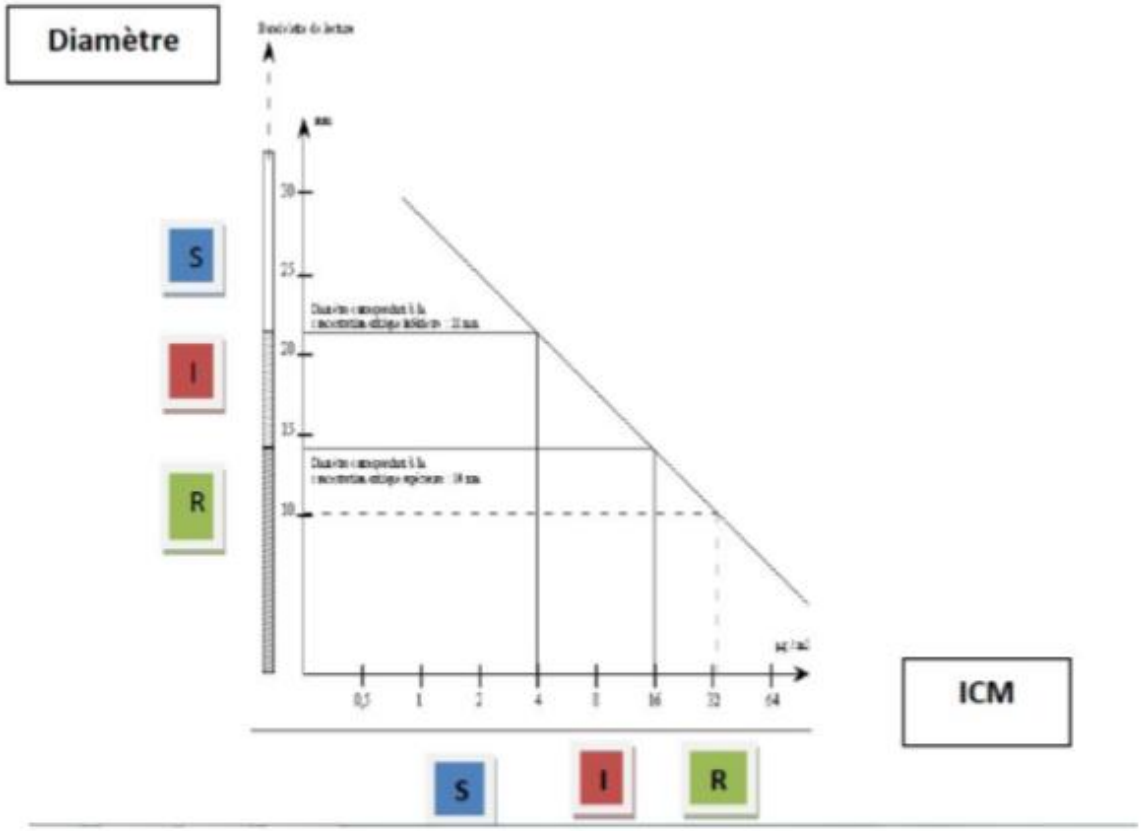
ATB / souche	**P1T1K2(1)**	**P1T1K2(1)'**
Amoxicilline (AMX)	**R**	**R**
Spiramycine (SP)	**I**	**I**
Colistine (CS)	**I**	**I**
Amikacine (AN)	**I**	**I**
Piperacilline (PIP)	**I**	**I**
Chloramphenicol (C)	**S**	**S**
Pristinamycine (PT)	**R**	**R**
Spectinomycine (SPT)	**/**	**/**
Cefotaxime (CTX)	**/**	**/**
Rifampicine (RA)	**I**	**I**
Kanamycine (K)	**R**	**R**
Imipenem (IPM)	**/**	**/**

R : la souche est Résistante **S** : la souche est Sensible **I :** la souche est Intermédiaire

/ : absence de la zone d'inhibition.

Il existe pour chaque antibiotique une relation linéaire entre le logarithme de la concentration en antibiotique et le diamètre du cercle concentrique au disque d'antibiotique appelée droite de concordance (figure 18).

Figure 17 : les catégories cliniques S, I, R selon les valeurs critiques



(Vincent Jarlier DIU Mal Inf).

Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition (Ømesuré) et le comparer aux diamètres des concentrations critiques inférieure et supérieure (d (CCsup) et D déterminer la sensibilité et la résistance comme indiqué dans le tableau ci :

∅ mesuré ≥ D(CCinf)	Sensible
∅ mesuré < d(CCsup)	Résistant
d(CCsup) ≤ ∅ mesuré < D(CCinf)	Intermédiaire

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro : Sensible (S), Résistante (R) et Intermédiaire (I).

atégorisées S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique les souches catégorisées R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique

quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée, les souches catégorisées I sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible.

D’après les résultats d’antibiogramme ont révèlent que les deux souches P1T1K2(1) et P1T1K2(1) qui ont été identifiées comme Enterobacter cloacae, sont sensible aux amoxicillin, kanamycine, prestinamycine. Résistante au chloramphénicol et à une sensibilité intermédiaire aux spiramycine, rifampicine, piperacilline, amikacin, colestin. Selon les références les infections dues à Enterobacter cloacae sont traités le plus souvent avec des antibiotiques bêta-lactamines (pipéracillinetazobactam) pendant 5 à 14 jours, des fluoroquinolones (ciprofloxacine) pendant 7 à 14 jours ou des aminoglycosides (gentamicine) pendant 7 à 10 jours, Enterobacter cloacae à une résistante à la céphalosporine. Les souches P1T1K1(3), P1T1K2(2) Cb ont été sensible aux 12 antibiotiques testés. La souche P1T1K2(2) Ct n’ont pas été testé à cause du manque des disques d’antibiotiques

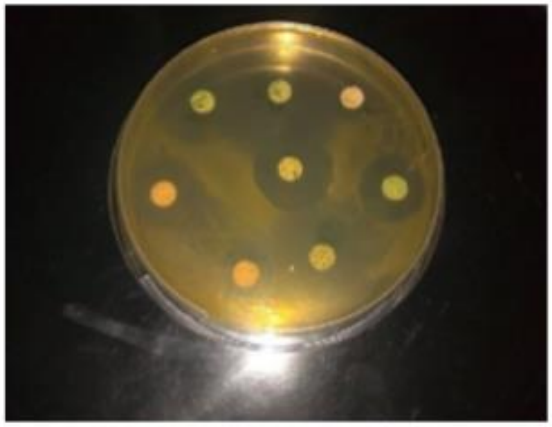


Figure 18: **l’antibiogramme de la souche Enterobacter cloacae P1T1K2(2), P1T1K2(2)’.**

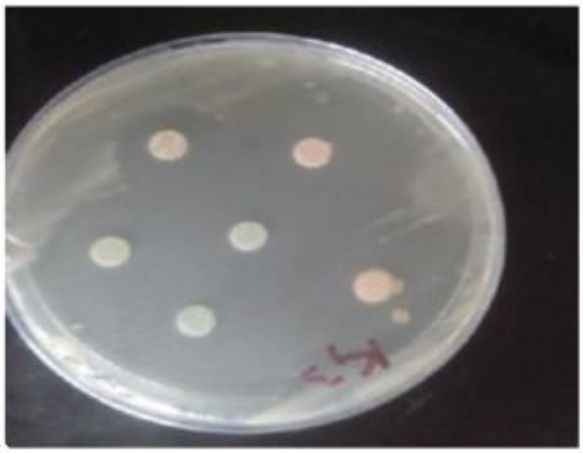


Figure 19: l'antibiogramme de la souche P1T1K1(3).

Durant cette initiation à la recherche, l'échantillonnage a été réalisé le mois d'Avril, par conséquent les deux tumeurs utilisées dans cette étude étaient âgées, rigides, brunes et difficiles à découper. Les résultats de l'identification phénotypique des 5 isolats sur le milieu sélective King B, n'ont pas révélé la présence de Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi dans nos échantillons, mais d'autres bactéries qui vivent dans les nœuds ont été bien isolées. Garcia de los Rios (1989) a démontré que l'agent étiologique de la tuberculose de l'olivier a été isolé seulement à partir de 5 à 10% des nœuds d'olive. Les bactéries de Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi peuvent être isolées à partir des nœuds sur le milieu King B et cultivés en laboratoire avec une incubation nécessaire entre les deux à trois jours à 27 ° C, pour l'identification et la confirmation, mais les nœuds âgés contiennent généralement une grande variété d'envahisseurs secondaires **(Yong, 2004)**.

Conclusion

L'olivier est parmi les plus anciens arbres fruitiers cultivés principalement dans les pays méditerranéens, cet arbre est bien connu pour son intérêt alimentaire et thérapeutique.

Les maladies de l'olivier entraine des chutes de rendement considérables et représente une menace permanente pour l'oléiculture algérienne.

Cette étude préliminaire a portée sur la recherche de la tuberculose de l'olivier ; une des maladies grave dans l'oléiculture .

Cette recherche est basée sur l'isolement et l'identification présomptive de quelques isolats bactériens à partir des tumeurs d'un olivier infecté du verger Sid Ali wilaya de Sétif.

Une étude réalisée en 2010 par Quesada et ses collaborateurs a été révélée que Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi survit mieux dans les tumeurs jeunes que sur les feuilles avec des populations varient plus en plus au cours de la saison des pluies et lorsque l'humidité est suffisamment élevée.

L'isolement a été prélevé a partir d'un seul verger sur les tumeurs âgées, brunes et dures, durant la période d'échantillonnage. Ces souches ont été purifiées par une série de repiquage successive et utilisées par la suite pour faire l'analyse phénotypique.

Les résultats de cette étude révèlent d'abord une certaine diversité des espèces bactériennes identifiées. Au total, cinq isolat ont été isolées a partir des tumeurs d'olivier, deux souches ont été identifiées comme Enterobacter cloacae (P1T1K1(2) ; P1T1K1(2)') et Le reste des souches a Gram positif n'ont pas été identifiées jusqu'à l'espèce : Clostridium (P1T1K2(2) ct); Lactobacillus (P1T1K2(2) cb) ; l'isolat (P1T1K1(3)) n'a pas été identifie selon les testes utilisées, cela exige des techniques particulières comme les galeries API spécifiques aux Gram positif et autres méthodes génomiques qui basées principalement sur la PCR, permettant l'identification du microorganisme jusqu'au niveau de l'espèce.

Cette recherche n'a pas révélée la présence de pseudomonas savastanoi pv. savastanoi, cette absence est due à la nature des tumeurs, le petit nombre des tumeurs prélevés, un seul essai d'isolement et aussi la saison de l'échantillonnage.

Pour arriver à isoler Pseudomonas savastanoi pv savastanoi il faut choisir des oliviers possédant un grand nombre de tumeurs jeunes (fraiches) et répéter l'isolement plusieurs fois,

et appliquer des techniques sérologique (l'immunofluorescence) et génomique (PCR) pour la détection rapide et efficace de Pseudomonas savastanoi.

La sensibilité des antibiotiques a été démontrée par l'application d'un antibiogramme qui permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne. Il permet donc de juger l'efficacité d'un antibiotique et selon lequel les bactéries ont été divisées en trois catégories différents: résistantes, intermédiaires ou sensibles. Il permet donc de juger l'efficacité d'un antibiotique et selon lequel les bactéries ont été divisées en trois catégories différents: résistantes, intermédiaires ou sensibles.

Annex 01

Tableau 14: *Antibiotiques agissant sur la paroi* ***(Nauciel et Vildé, 2005). (Cavallo et* al*, 2004).(4)***

famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre	Mode d'action
Pénicillines : **1-pénicilline G et ses dérivés.**	*Benzyl-pénicilline*	**spectre Etroit :** - CG (Cocci Gram) + et - - Bacilles à Gram positif aérobies -pénicilline G : *Treponema pallidum.* - certains anaérobies Molécules dégradées par β-lactamases .	bloquent la synthèse du peptidoglycane ou muréine. Ce blocage intervient par inhibition de certaines enzymes responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes, appelées PLP (**P**rotéine **L**iant la **P**énicilline), sont insérées dans l'espace périplasmique de la bactérie .
2-Pénicilline M	*-Oxacilline -Cloxacilline*	-Non sensibles aux β-lactamases -sensible (SAMS) .	
***3*-Aminopénicilline**	*-Ampicilline -Amoxicilline*	**Spectre large** : Elargis aux Bacilles à G- Sensibles aux β-lactamases	
4-Carboxy-pénicillines	-Carbénicilline -Ticarcilline.	**Spectre Larg** : -Bacilles à Gram- résistants à l'ampicilline. -P*seudomonas aeruginosa.* -Entérobactéries productrices de Céphalosporinases.	
5-carbapénènes	*-Imipénèmes*	**Très large** : Bactéries GP et GN aérobies et anaérobies, sauf Staphylocoques meticillino-résistants (SARM) et *Clostridium difficile*	

Céphalosporines : **-1ère génération** (C1G)	-*Céfalotine* -*Céfaperos*	**-spectre étroit** proche de celui des pénicillines A, mais avec une meilleure résistance aux β-lactamases - **CG+** : SAMS, Streptocoques - Quelques Bacilles GN : *Haemophilus influenzae, E. coli, Klebsiella*…	
Céphalosporines **:** **-2ème génération**(C2G)	-*Céfuroxime* -*Céfamandole*	Idem C1G mais avec une résistance plus importante aux β-lactamases ; utilisées contre bactéries devenues inconstamment sensibles aux C1G	
Céphalosporines : **-3ème génération**(C3G)	**- orale** *Céfpodoxime* *Céfixime* **- injectable** *Céftriaxone* *Céfotaxime*	Spectre Large : -**Bacilles à Gram-** -**Cocci à Gram+:**Pneumocoque, Streptocoque (sauf Entérocoque). -**Cocci à Gram -** -Certains sont actifs sur Pseudomonas].	

Glycopeptides	-Vancomycine -Teicoplanine	**Bactéries à Gram+** et essentiellement: -Staphylocoques MRSA+ - Entérocoques - Pneumocoque résistant aux pénicillines	Ils se fixent de manière non covalente sur la partie D-Ala-D-Ala terminale des peptides impliqués dans la phase de polymérisation du peptidoglycane, de ce fait, la polymérisation est inhibée. Ce groupe comprend la vancomycine et la teicoplanine.
Non classé	-Fosfomycine	**-Cocci à Gram positif** -**Bacilles à Gram négatif**. *Staphylococcus aureus et Streptococcus pneumoniae* Entérobactéries sauf *M.morganii. N.meningitidis*, Pasteurella et *Pseudomonas Aeruginosa*	inhibe l'enzyme impliquée dans la formation de l'acide N-acétyl-muramique, qui est l'un des précurseurs du peptidoglycane.

Tableau 15 : Antibiotiques agissant sur la synthèse protéique**.** (**Singleton, 2005**) (**Yala et *al.*, 2001**) **(Cattoir, 2004) Nauciel et Vildé,2005).(4)**

Famille	**Antibiotiques (DCI)**	**Spectre d'activité**	**Mode d'action**
Aminosides	-Streptomycine -Gentamicin *-Amikacine* *-Netilmicine*	-Cocci et bacilles à Gram+. - Cocci et bacilles à Gram-, - Mycobactéries (streptomycine, kanamycine). Les anaérobies et les	agissent sur diverse fonctions (la réplication et le transport membranaire) mais leur effet principal vient de leur fixation à la sous unité 30S du ribosome ou ils

		streptocoques sont résistants.	s'interférent avec la synthèse des protéines.
-Macrolides **-Lincosamides** **-Streptogramines (MLS)**	-Spiramycine -Lincomycine Pristinamycine	**-Cocci à Gram + :** Staphylocoque MRSA-, Streptocoque **-Cocci àGram-:** Neisseria, Moraxelles **-Bacilles à Gram+:** *Corynebacterium diphteriae, Listeria monocytogenes,Bacillus* **-Certains bacilles à Gram- :** Campylobacter, Helicobacter, Legionella **Certains anaérobies:** Eubacterium, Propionibacterium	se fixant à la sous unité ribosomique 50S. Et leur action est habituellement bactériostatique, provoquant une terminaison prématurée de la synthèse polypeptidique. Ils se lient à la peptidyltransférase et inhibent la transpeptidation, conduisant à la libération d'un polypeptide incomplet.
Tetracyclines	Oxytetracycline -Doxycycline -Glycylcyclines	**Large** : - bactéries intra et extracellulaires -inconstamment sensibles : *Neisseria, Vibrio cholerae* -fréquemment résistantes : SAMS, Streptocoques, Entérobactéries, *Haemophilus*	inhibent la synthèse protéique bactérienne par la fixation réversible à la sous-unité 30S des ribosomes empêchant l'attachement des aminoacyl-ARNt au site A du ribosome

Phénicolés	-Chloramphénicol -Thiamphénicol	- les coques à Gram (+) ou (-), - les bacilles à Gram (+), - certains bacilles à Gram (-) dont les entérobactéries, - les anaérobies, - les spirochètes, - certains germes particuliers comme les *Rickettsia*, *Chlamydia* et Mycoplasmes.	Inhibition de la peptidyltransférase, en se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien.
Oxazolidinones	-Linézolide	Bactéries à Gram+ résistantes aux traitements habituels y compris les multi résistantes	Ils se fixent sur la sous unité ribosomale 50S et empêche sa liaison à la sous unité 30S .

Tableau 16 : Antibiotiques agissant sur la synthèse des acides nucléiques. **(Hooper, 2002). (Nauciel et Vildé, 2005).(4)**

famille	**Antibiotiques (DCI)**	**Spectre d'activiter**	**Mode d'action**
Quinolones et Fluoroquinolones large)	-Acide nalidixique, -Acide pipémidique, -Acide oxolinique Fluméquine	Entérobactéries Les **Gram+** sont Résistants.	Ils agissent sur **deux** enzymes impliquées dans cette synthèse: **-ADN gyrase** (cible principale des BGN) il forme un complexe ADNgyrase-Quinolones qui va bloquer la progression de l'ADN polymérase bactérienne au cours de la réplication.
	Lévofloxacine, Moxifloxacine Sparfloxacine, gatifloxacine	Staphylocoques, Streptocoques, Pneumocoques, bacilles à Gram+ (sauf Bacillus)	

	-Péfloxacine -Ofloxacine -Norfloxacine -Ciprofloxacine	Entérobactéries et Staphylocoques	**-ADN topo- isomérase IV** L'interaction entre l'ADN, quinolone et topoisomerase stimule la coupure de l'ADN et inhibe la relégation.
Rifamycines	-Rifamycine -Rifamycine SV	-Mycobactéries -Bactéries à Gram+ à Développement cellulaire. divers bacilles à Gram- dont Brucella.	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARNm par inhibition de l'ARN polymérase.
Nitrofuranes	-Nitrofurantoine -Furazolidone -Nifuroxazide	Bacilles à Gram- , Inactifs sur Pseudomonas, Acinetobacter et autres Gram-	Elles agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases)

Tableau 17 : Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique.***(Fauchèr et Avril, 2002).(4)***

Famille	**Antibiotiques (DCI)**	**Spectre d'avtivité**	**Mode d'action**
Polymixines	-Polymixine B -Colistine	Bacilles à Gram- sauf :Proteus, Providentia, Serratia marcescensMorganella morganii et Edwardsiella tarda Les bactéries à Gram+ et les	Elles se fixent sur les phospholipides, et perturbent ainsi les transferts transmembranaires de nutriments et inhibent les phosphorylations

		mycobactéries sont naturellement résistantes.	oxydatives du métabolisme énergétique

Tableau 18 : Antibiotiques agissant sur la **synthèse de l'acide folique : (Lambert, 1995**). **(Veyssier, 1999**). (**Veyssier,1999).(4).**

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre	Mode d'action
Sulfamides	-Sulfapyridine, -Sulfafurazole - Sulfaméthoxydiazine - Sulfaméthoxypyridazine -Sulfaméthoxazole -Sulfaméthizole -Sulfaguanidine	**Bactéries à Gram -** mais il existe beaucoup de résistances vis à vis de ces antibiotiques.	Inhibent la synthèse des folates, agissent en compétition avec le PABA pour le site actif, la dihydroptéroate synthétase (DHPS) qui catalyse une réaction essentielle à la synthèse de l'acide tétrahydrofolique (DHF) nécessaire à la production des purines et pyrimidines pour la synthèse de l'acide nucléique .
2-4diamino-ptéridine	-Trimethoprime	Il est utilisé en association avec les sulfamides (voir Sulfamides + Trimethoprime	Inhibent la synthèse des folates, en se fixant sur la dihydrofolate réductase
Sulfamides+ Trimethoprime	-Sulfaméthoxazole+ Trimethoprime (Cotrimoxazole)	Bactéries à Gram+ et - mais il existe beaucoup de résistances vis à vis de ces antibiotiques.	Agit sur les deux enzymes précédentes

Annexe 02

1-Milieux de culture (g/l) :

Bouillon Nutritif :

Tryptone ……10g

Extrait de viande ……...05g

Chlorure de sodium……05g

PH= 7,2

Hugh et Leifson Peptone……02g

Chlorure de sodium…….05g

Hydrogénophosphate de potassium……...0,3g

Glucose……10g

Bleu de bromothymol…….....0,03g Eau distillée……1L

PH = 7,2

Gélose nutritive :

Extrait de viande……...03g

Peptone……..05g

Chlorure de sodium……..05g

Agar……15g

Eau distillée……1L

PH = 7,2

Levane (NAS) Agar……28g

Saccharose……50g

Eau distillée……1L

PH = 7, 2.

King B

Protéase peptone n°03……20g

Glycérol……10ml

Mueller-Hinton Infusion de viande de bœuf ……300ml

Peptone de caséine…… 17,5g

Amidon de maïs……15g

Agar……15g

PH : 7,4.

2-Les réactifs utilisé dans la galerie biochimique API20E

JAMES

R1: HCl 1N ….....100 ml

R2: Compound J 2183…….....0,66 g

VP : Voge Proskauer

- **VP1**

Hydroxydede potassium …….40 g

H2O ……..…….100ml

- **VP2**

alpha-Naphtol……..……..6 g

Ethanol …….....100ml

Nitrate réductase (NR)

- **NIT 1**

Acide sulfanilique……..0, 4 g

Acidacétique…….....30g

H2O…….……70ml

- **NIT II**

AN, N-dimethyl-1-naphthylamine……0,6g

Acidacétique……..……...3 0 g

H2O…….....70ml

TDA: truptophanedesaminase

Perchlorure de fer ……...3.4g

H2O….....100m

Huile de vaseline.

Poudre de Zinc.

Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée API20.

Tests	Réactions	Composants actifs	Ajout de réactifs	Résulta	
				Négatif	positif
ONPG	Béta-galactosidase	2-nitrophénil béta-Dgalactopyranoside	Non	Incolore	Jaune
ADH	Arginine dihydrolase	L-arginine	Non	Jaune	Orange ou Jaune
LDC	Lysine décarboxylase	L-lysine	Non	Jaune	Orange ou rouge
ODC	Ornithine décarboxylase	L-ornithine	Non	Jaune	Orange ou rouge
CIT	Assimilation de citrate	Citrate trioside	Non	Vert pale ou jaune	Bleu vert ou bleu
H2S	Thiosulfate réductase	Thiosulfate de soduim	Non	Incolore ou grisâtre	Dépôt noir
URE	Uréase	Urée	Non	Jaune	Orange ou rouge violacé
TDA	Tryptophane désaminase	L-tryptophane	TDA	Jaune	Marron ou brun foncé
IND	Production d'indol	L-tryptophane	James	Jaune	Rose ou rouge
VP	Production d'acétone	Pyruvate de sodium	VP1 VP2	Incolore	Rose ou rouge
GEL	Gélatinase	Gélatine de bœuf	Non	Non	Diffusion

				Diffusion du charbon	du charbon
GLU	Glucose	D-glucose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
MAN	Mannitol	D-mannitol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Inositol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	D-sorbitol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	L-rhamnose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
SAC	Saccharose	D-saccharose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
MEL	Mélibiose	D-mélibiose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Amygdaline	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
ARA	Arabinose	L-arabinose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune

Les références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Ammar M., 1986** - Les cochenilles de l'olivier et leur impact sur la production oleicole dans la region de Sfax. Cas particulier d'*Aspidiotus nerii* Bouche (*Homoptera, Diaspididae*). Memoire de fin d'étude du cycle de spécialisation en oléiculture, I. N. A. T., 94p
- **Amouretti et Comet. (1988)**. (MCG)-le livre de l'olivier, Edisud.
- **Bellahcene M.2004**.la verticilliose de l'olivier : étude épidémiologie et diversité génétique de verticillium dahlia kleb ., Agent de laverticilliose.Thése.Doct.D'Etat.Univ.Qran(Algerie).144p
- **Benizri E., Baudoin E., Di Battista L et Guckert A . (2001)**.Des bactérie pour la santé des plantes Bio futur Vol.210 : 52-56
- **Benjama A (1988).** Parasitic olive diseases in Morocco, Olivae 20, 21–33
- **Benjama Abdelhadi (2003).** Méthode d'évaluation rapide du degré d'attaque de l'olivier par la tuberculose causée par Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi, en verger au Maroc *Fruits*, vol. 58, p. 213–219. DOI: 10.1051/fruits:2003009
- **Benjama, A. (2003).** Méthode d'évaluation rapide du degré d'attaque de l'olivier par la tuberculose cause par Pseudomonas savastanoipv. savastanoi en verger au Maroc, Fruits, 58 : 213-219**.**
- **Benyoub K. (2010**). Isolement de souches de Pseudomonas à partir des sols et des nécroses d'oliviers de l'Ouest Algérien : Identification et caractérisation biochimique,
- **Boucher C.A., Van Gijsegem F., Barberis P.A., Arlat M., Zischek C., 1987.** *Pseudomonas* salanacearum genre controlling both pathogenicity on tomato and hypersensitivity on tobacco are clustered J Bcteria, 5626-5632.
- **Boulsen Bouthaina Zahra** et **Bouraui Nour El Houda (2016**) Etude sur la tuberculose de l'olivier ; isolement et identification présomptifs de quelques isolats bactériens à partir des tumeurs (Mémoire de Master) Université des Frères Mentouri Constantine.
- **Boulsen Bouthaina Zahra et Bouraui Nour El Houda (2016**) Etude sur la tuberculose de l'olivier ; isolement et identification présomptifs de quelques isolats bactériens à partir des tumeurs (Mémoire de Master) Université des Frères Mentouri Constantine.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Boutkhil Samir (2017**). Isolement, identification et caractérisation physiologiqueetpathogènique de quelques pathogènes de l'olivier (Olea europea L.) (Thèse de Doctorat) UniversiteDjillaliliabes De Sidi BelAbbes champignons. Paris, page 147.
- **Calgagno F., Lacroix R. (2011)**. *Pharma-memo Infectiologie*. Paris, France : Editions Vernazobres-Greco. 246 p.
- **Cattoir V. (2004).** Pompe d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries.*Pathologie Biologie*. **52**, 607-616.
- **Cattoir V. (2004)**. Pompe d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries.*Pathologie Biologie*. **52**, 607-616.
- **Cavallo J D, Fabre R, Jehl F, Rapp C et Garrabé E. (2004**). Bêta-lactamines. *EMC-MaladiesInfectieuses.* **1**, 129–202.
-
- **Chobra,I., 1998** ,Research and developpement of antibacteril agents , current opinion in Microbiology ,1 , 495-501.
- **Comai, L.&Kosuge, T.(1980).**Involvement of plasmiddeoxyribonucleicacid in indoleaceticacidsynthesis in Pseudomonas savastanoi. Journal of Bacteriology 143, 950
- **Daniel, Ps., Maria, P., Chiaraluce, M., Roberto, B., Cayo Ramos& Vittorio**, **V.(2014**). Bacterialmultispeciesstudies and microbiome analysis of a plant disease.Microbiology (2014),160, 556–566, DOI 10.1099/mic.0.074468-0.
- **De Lastours V et Fantin B**. (**2010**). Resistance to fluoroquinolones in2010:What are the consequences for prescriptions in intensive care units? Réanimation. 19, 347-353.
- **Demoré B, Grare M, Duval R.** Pharmacie clinique et thérapeutique 4ème édition. Chapitre 40 : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. Elsevier Masson; **2012**.
- **Ercolani, G.L. (1993**). Comparison of strains of Pseudomonas syringaepv. savastanoifrom olive leaves and knots. Letters in AppliedMicrobiology, Vol. 16, No. 4, (April 1993), pp. 199- 202.
- **Fauchére JL**.et **Avril JL**. (**2002**). Bactériologie générale et médicale. Edition Ellipses, Paris.365 :367 :520p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Flandrois, J.C., Courco, L., Lemeland, J.F., Ramuc, M., Sirot, J. et Souny, C.J., (1997).** Bactériologie médicale. Presses Universitaire de Lyon. ISBN : 2 7297 0567 8.
- **Gogny. M**, puyt. J.D, Pellerin. J.L (2001) Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire,Editions le point vétérinaire.p 165-168.
- **Gonzales C.F., Layher S.K., Vidaver A.K., Olsen R.H. (1984)**. Transter mapping and cloning of *Pseudomonas syrigae pv. Syrigae* plasmid pCG 131 and assessment of its role in virulence. Phytopathology 74, 1245-1250.
- **GUARDABASSI L., COURVALIN P**. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In : Aarestrup F.M. (Ed.),Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press : Washington, **2006**, 1-18.
- **Hall, B. H., Cothe, E. J., Whattam, M., D., Noble, D., Luck, J. and Cartwrignt, D.I. N. P. V., 2009 -** Fiche technique sur *Bactocera oleae*, p. 2. Irrigation.Tnst. Nat. Agro. El Harrach-Alger.

  IS53: an insertion element for molecular typing of Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi. Research in Microbiology 159, 207–15.

  ISSN 0020-0735. Journée national sur la protection de l'olivier, Marrakech le 27 mai 1999.
- **Hermann, T. (2005**). Drugstargeting the ribosome. Corrent opinion in microbiolgie. 15, 1
- **Hooper DV. (2002)**. Emerging Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance.Emerging Infectious Diseases. **7**, 337-341.
- **Hosni, T., Moretti, C., Devescovi, G., Suarez-Moreno, Z. R., Fatmi, M. B., Guarnaccia, C., Pongor, S., Onofri, A., Buonaurio, R. &Venturi, V. (2011).** Sharing of quorum-sensing signals and role of interspecies communities in a bacterial plant disease. ISME J 5, 1857–1870.

- **Kado, C.I. (1992**). Plant pathogenicbacteria, In: The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications, Balows, A., Truper, H. G.,Dworkin, M., Harder, W. &Schleifer, K.H., Vol. I, pp. 659-674, Springer-Verlag, ISBN 0387972587, New York, USA.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Labdaui D.** (2017). Impact socio-économique et environnemental du modèle d'extraction des huiles d'olives à deux phases et possibilités de sa diffusion dans la région de Bouira (Algérie).
- **Lacobellis, N., S. 2001**. Olive knot. In, « Encyclopaedia of Plant Pathologie ». Vol.2. (Eds Oc Malloy. ID Murroy). 713-715p. (John Wely and sond).
- **Lambert NZ. (1995)**. Antibiothérapie en pratique clinique. Edition : Bergogne-Berezin P. Dellamonica. 33-35 p.
- **Larry M**. Bush, Charles E. Schmidt. Overview of Bacteria. (**2017**)http://www.merckmanuals.com/home/infections/bacterialinfections/overview-of-bacteria
- **Latef Amina*(2018)*.** Contribution à l'étude de deux maladies de l'olivier rencontrées dans la région de M'chaddellah-Bouira : cas de dépérissement et de la tuberculose de l'olivier (Mémoire de Master) Universite Akli Mohand Oulhadj – Bouira
- **Lavermicocca, P., Lonigro, S.L., Valerio, F., Evidente, A., & Visconti, A. (2002).** Réduction of olive knotdisease by a bacteriocin frome Pseudomonas syringe PV. ciccaronei. AppliedandEnvironmentalMicrobiology, Vol. 68, No. 3, (March 2002), pp. 1403-1407, ISSN 0099-2240.
- **Lazzeri Y. 2009.** Les défis de la mondialisation pour l'oléiculture méditerranéenne.
- **Le moniteur INTERNAT. (2007)**. *Infectiologie* (3ème édition). Paris, France : Wolters Kluwers SA. 1036 p.
- **Levy SB**: Antibiotic Resistance: An Ecological Im balance, in Ciba Foundation Symposium 2007- Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread. Chadwick DJ, Goode J. John Wiley & Sons, Ltd. (ed): Chichester, UK,2007; **2007.** 1:1-14. 10.1002/9780470515358.ch1.
- **Levy SB**: From tragedy the antibiotic age is born . The Antibiotic Paradox. Springer;**1992**. 1–12.
- **Loussert, R.& Brousse, G. (1978).**L'olivier. ED. Maisonneuve et larosse, Paris, page 464.
- **Loussert,L.&Brousse,** G. (1978).L'olivier techniques agricoleset production méditerranés, (Eds) Maisonneuve et Larousse, Paris, France, Page 480.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **LOZNIEWSKI A**., **RABAUD C**. Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins CCLIN Sud-Est. **Nancy. Juillet 2010**.
- **Magnet et Blanchard, (2005) .Katz L**. et **Ashley GW**. (**2005**). Translation and ProteinSynthesis: Macrolides. Chemical Reviews. 105 (2), 499-527
- **Maillard, R. (1975).**L'olivier. Institut de vulgarisation pour les fruits, légumes et champignons.paris,page 147.
- **Maiti SN, KamaleshBabu RP et Shan R. (2006)**. Overcoming Bacterial Resistance:Role of β-Lactamase Inhibitors. *Topics in Heterocyclic Chemistry*. **2**, 207-246.
- **Marchi, G., Mori, B., Pollacci, P., Mencuccini, M. &Surico, G**. (2009). Systemic spread of Pseudomonas savastanoipv. savastanoi in olive explants. Plant Pathology, 58:152-158
- **Mevius, D.J**., rutter,J.M, Hart, C.A., Imberechts, H., Kempf, G.,Lafont, J.P., Luthman, J., Moreno, M.A, Pantosti, A., Pohl, P., Willadsen, C.M., (1999). Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines.Report and qualitative risk assessement by the committee for veterinary medicinal products, Editions le point vétérinaire.p1-57
- **Mogenet L., Fedida D, (1998).** Rational antibiotherapy in poultry farming. Edition: CEVA.
- **Nauciel C** et **Vildé JL**. (2005). Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action Edition : Masson. Paris .49-56p.
- **Newman DJ, Cragg GM, Snader KM (2003)** Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J. Nat. Prod.* **66**: 1022-103.
- **Nicose et Maria., 2005**.- psilakis.huile d'olive. Le secret de la bonne santé-conseil par son utilisation correcte. *olives (Olea europea) in Australia. Australasian. Plant. Pathology.* 33: 219-228p.
- **Nilius, A.M., Et Ma, Z., (2002**). Ketolides: the future of microlides? Current Opinion in pharmacology. 2 ,1-8. 149335-366.
- **Ogwara, H**., (1981). Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to betalactam antibiotics. Microbial. Rev.45(4),591-619.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Oxoby, M., (2002)** Etudes sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucyclinones, Thèse de docteur en chimie organique de l'université bordeaux I, école doctorale des sciences chimiques.p3-12.
- **Pangol, J. (1975).**Précis de botanique pharmaceutique TOME 2, édition librairie Maloine, Paris.
- **Penyalver, R., García, A., Ferrer, A., Bertolini, E., Quesada, J.M., Salcedo, C.I., Piquer, J., Pérez-Panadés, J.,Carbonell, E.A., del Río,C., Caballero, J.M. & López, M.M. (2006).** Factors affecting *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* plant inoculations and their use for evaluation of olive cultivar susceptibility. *Phytopathology*, Vol. 96, No.3, (March 2006), pp.313-319, ISSN 0031-949X.
- **Philippe, L. 2007**. Les procaryotes phytopathogénes. Chapitre 4 phytopathologies. Ed ;Feeman, New York. 432p.
- **Poole K. (2004)**. Resistance to *β*-lactamantibiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences.* **61**,2200-2223.
- **Protta, U. (1995).** Le malattie dell' oliv*InformatoreFitopatologico*, No. 12, pp. 16-26.
- **Quesada, J.M., Penyalver, R., Pérez-Panadés, J., Salcedo, C.I.,Carbonell, E.A. &López, M.M. (2010a**). Dissemination of Pseudomonas savastanoipv. savastanoi populations and subsequentappearance of olive knotdisease. Plant Pathology, Vol. 59, No. 2, (April 2010), pp. 262–269, ISSN 1365-3059.
- **Roberto, B., Chiaraluce, M., Daniel, P.S., Chiara, C., Cayo, R. & Vittorio V. (2015).** The olive knot disease as a model to study the role of interspecies bacterial communities in plant disease, *Frontiers in plant science*, REVIEW published: 10 June 2015 doi.
- **Rodrıguez, M.L., Barcelo, M., A. & Ramos, C. (2008**). In vitro analysis of the interaction of Pseudomonas savastanoipv.savastanoi and neriiwithmicropropagated olive plants. Phytopathologie 98, 815–822.
- **Rodriguez-Villalobos H**. et **Struelens MJ. (2006)**. Extended spectrum β-lactamases mediated bacterial resistance: Implications for the intensivist. *Réanimation*. **15**, 205-213.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Senhaji, A. (1999).** Problématique de la tuberculose de l'olivier dans le plateau du Saiss.**(2004).** First repot of olive Knot caused by *Pseudomonas Savastanoi Pv. Savastanoi on.*
- **Serdoun Bekri (2013)** La détection de pseudomonas savastanoi, agent causal de la tuberculose de l'olivier évaluation et comparaison d'une technique d'isolement sur milieux de cultures et d'une technique sérologique (immunofluorescence) (Mémoire De Magister) Université d'Oran . sérotypique et phytopathologique. Recherche de l'antibiorésistance, d'antagonisme (bactériocine) et d'ADN plasmidique. Mém. Magis. Univ. Oran (Algérie). 156p.
- **SICILIANO, 2016** .Ravageurs et maladies Secondaires de l'olivier ,centre téchnique de l'olivier.
- **Singh SB, Barrett JF** (2006) Empirical antibacterial drug discovery foundation in natural products. *Biochem. Pharmacol.* **71**: 1006-1015
- **Singleton P**. **(2005)**. Bactériologie pour la médicine, la biologie et la bactériologie. Edition :Durot .Paris. 100-102p.
- **Veyssier P. (1999)**. Inhibiteurs de la dihydrofolate réductase, nitrohétérocycles et 8-hydroxyquinoléines. In : Bryskier A (Eds.), Antibiotique, agents antibactériens et antibiotiques. Ellipses, Paris, pp. 1008-1
- **Wilson, E.E. & Ogawa, J.M. (1979**). Fungal, bacterial, and certain nonparasiticdiseases of fruit and nutcrops in California, Division of Agricultural Sciences, University of California, ISBN 093187629X, Berkeley, USA.First
- **Yala D**, Merad AS, Mohamedi D. et Ouar korich MN. (2001). Resistance bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb***. 91**, 6-14.
- **Young, J.M., Saddler, G.S., Takikawa, Y., De Boer, S.H.,Vaquterin, L.,Gardan**, **L.,Gvozdyak, R.I. &Stead De.(1996**). Names of plant pathogeniebacteria. Review of plant pathology, 75, 721-763.
- **zeba, B.,(2005)** .Overview of Beta-lactamase incidence on bacterial drug resistence. African journal of biotechnologie 4 (13) ,1559-1562 .
- ***Chapitre I Généralité sur l'Olivier.pdf…(1)***
- **la culture de l'olivier.pdf…(2)**
- **images.app.goo.gl…(3)**

Image : LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES.

- **D.MOHAMMEDI** , Classification et mode d'action des antibiotiques **(pdf)…(4)**

- site1) http://www.accopa.com/les -maladies-de-olivier_php.
- Site2) https://www.olivie rdeprovence.com/odpce-Fr/olivier-ravageurs.php
- Site3) http://afidol.org/oleiculture/psylle-de-l'olivier/
- Site4)http://agronomie.info/Fr/les-travaux-du-sol-pour-creation-dun-verger-dolivier/amp.