

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique
جامعة أمحمد بوقرة بومرداس
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA DE BOUMERDES



Mémoire de projet de fin d'étude en vue de l'obtention de diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Département : Des sciences biologiques

Thème

*Criblage phytochimique, activité antimicrobienne et activité antibiofilm des extraits végétaux récupérés à partir d'*Anvillea Radiata**

Présenté et réalisé par : M^{me} : CHELMOUN Abir

M^{lle} : SEBAIHI Rania

Les membres du jury composé de :

| | | |
|------------------------------------|--|---------------------|
| M^{me} KHEMILI. S | Professeure de l'université (U.M.B.B) | Président |
| M^{me} BEHIDJ.N | Professeure de l'université (U.M.B.B) | Promoteur |
| M^{me} SAYAH. A | Maitre assistant (U.M .B.B) | Examineur |
| M^{lle} BENSOUNA. S | Doctorante (CRD-Saidal) | Co-Promoteur |

Année universitaire 2020 – 2021

Remerciement

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

Nos sincères remerciements adressés à notre promotrice Mme BEHIDJ Nassima Professeur de l'université UMBB et Mme BENSOUNA SELMA notre Co-promoteur en acceptant de nous diriger et de nous aider tout au long de la réalisation de ce mémoire, aussi ses conseils, ses commentaires, sa bienveillance.

Nos remerciements vont également à l'ensemble des membres du jury pour leur collaboration à l'examinations de ce travail, merci Mme SAYAH.A maître assistance et Mme KHEMILIS Professeur de l'université UMBB.

Nous tenant à remercié tous les enseignants de la Faculté des Sciences pour tout le savoir qu'on a acquise grâce eux durant cette période d'étude.

En fin nous tenant à remercier tous ceux qui nous sont soutenu et encouragé pendant la préparation de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents qui m'ont soutenu moralement tout au long de mes études.

A mes chères sœurs qui j'aime trop : Rayane, Dounia et la petite Zinebe.

Aussi je dédie ce travail à ma grande mère et à toute ma famille.

A mon fiancé Ahmed Alaa Eddine

A ma sœur et mon binôme Abir

A tous mes ami(e)s Roufaïda, imene, imene, nesrine, et mes camarades.

A toute la promotion de Biotechnologie microbienne 2020/2021.

A tous ceux que j'aime et je respecte





Je dédie ce modeste travail :

*A mes chers parents ouardia et saïd ,
ceux qui m'ont donné la vie, qui sont sacrifiés
pour mon bonheur et ma réussite, qui m'ont
toujours apportés tout l'effort et le soutien
incessant. J'espère qu'un jour je pourrai leurs
rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi,
que Dieu les bénisse et leur donne une longue
vie.*

*A mes sœur, Nassima et affef je vous
souhaite une vie pleine de bonheur. A mes
chers frères, seddam et abedelhak*

*A mon cher mari mon meilleur ami
et mon tout Islam. A mes belles cousines Ferial
et yousra*

A ma sœur et mon binôme Rania

*A mes amies que j'ai vécu avec elles
des beaux moments au cours de mon cursus à
l'université : Imene, Roufaïda, Ferial, Lynda,
Imene et Nesrine*

*Et toute la promotion de Biotechnologie
microbienne 2020/2021. A tous qui me
connaissent de près ou de loin. Merci du fond de
cœur.*

Liste des figures

Fig. I.1 De la plante au médicament

Fig. I.2 Squelette de base des flavonoïdes

Fig. I.3 Structure chimique de quelques acides phénols

Fig. I.4 Squelette de coumarine

Fig. I.5 Structures chimiques de deux alcaloïdes, la morphine (a) et de la cocaïne (b).

Fig. I.6 Exemple de monoterpènes

Fig. I.7 Quelques exemples des sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles

Fig. I.8 *A. Radiata*

Fig. I.9 Inflorescence en capitule d'*A. Radiata*

Fig. I.10 Répartition géographique de la plante *Anvillea Radiata* en Algérie

Fig. I.11 Les Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne

Fig. I.12 Les étapes de la formation d'un biofilm

Fig. II.13 **Situation** géographique de la wilaya d'Ouargla

Fig. II.14 **Poudre** de la plante *Anvillea Radiata* Coss et Dur

Fig. II.15 Les étapes de macération

Fig. II.16 Montage Soxhlet

Fig. II.17 Principe de d'évaluation de l'activité antibactérienne

Fig. II.18 Ensemencement des souches

Fig. II.19 Incubation des souches dans l'étuve

Fig. II.20 L'inoculum bactérienne

Fig. II.21 Préparation de la première couche

Fig. II.22 Préparation de la 2eme couche

Fig. II.23 Préparation des concentrations

Fig. II.24 Extrait de la plante à 100 mg

Fig. II.25 Le dépôt des extraits à l'aide d'une micropipette

Fig. II.26 Les disques stériles

Liste des tableaux :

Tableau. I.1 Systématique d'*Anvillea Radiata*

Tableau. I.2 Classification d'*Asteraceae*

Tableau. II.3 Les souches testées pour l'activité antibactérienne et antifongique

Tableau. II.4 Identité d'*Anvillea Radiata*

Tableau. II.5 Diamètres critiques des antibiotiques utilisés

Tableau.III.6 Présente les résultats de screening phytochimique par réaction de coloration/précipitation des plantes étudiées.

Tableau.III.7 Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique d'*Anvillea Radiata*

Tableau.III.8 La concentration minimale inhibitrice « CMI » de l'extrait éthanolique d'*Anvillea radiata* (cas des souches de référence)

Tableau.III.9 zone d'inhibition des souches bactérienne sur les antibiotiques

Tableau.III.10 L'activité antifongique de l'extrait éthanolique d'*A.Radiata* testé sur les souches de référence

Tableau.III.11 La concentration minimale inhibitrice « CMI » de l'extrait éthanolique d'*Anvillea radiata* (cas des souches de référence)

Les abréviations

% : Pourcentage

μl : microlitre

A. Radiata : *Anvillea Radiata*

ATCC : American Type Culture Collection

C° : degré Celsius

Cm : Centimètre

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO: Diméthylsulfoxyde

ET: Ecart type

FeCl₃ : Perchlorure de Fer

Fig : Figure

H: heure

H₂SO₄ : acide sulfurique

HCl : Alcool Chlorhydrique

HSE : Huile Essentielle

g : gramme

GN : Gélose nutritive

MH : Mueller Hinton

mg : milligramme

ml : millilitre

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium

R : le rendement en %

ROS : Reactive oxygen species

UFC: unité Formante Colonie

| | |
|---|----|
| Sommaire | 01 |
| Introduction..... | |
| Chapitre I : synthèse bibliographique | |
| I.1 Généralité sur <i>Anvillea radiata</i> | 03 |
| I.1.1 l'action des plantes médicinales..... | 03 |
| I.1.2 Le pouvoir des plantes..... | 03 |
| I.1.3 Des traitements a base des plantes..... | 03 |
| I.1.4 Les plantes et le système de régulation | 04 |
| I.1.5 De la plante au médicament..... | 04 |
| I.1.6 Les avantages de la phytothérapie..... | 06 |
| I.1.7 Les éléments actifs de la plante (les métabolites secondaires | 07 |
| I.1.7.1 les phénols..... | 07 |
| I.1.7.1.1 Définition..... | 07 |
| I.1.7.1.2 Les propriétés biologiques..... | 08 |
| I.1.7.2 Les flavonoïdes..... | 08 |
| I.1.7.2.1 Définition..... | 08 |
| I.1.7.2.2 Les propriétés biologiques | 09 |
| I.1.7.3 Les huiles essentielles | 09 |
| I.1.7.3.1 Définition..... | 09 |
| I.1.7.3.2 Les propriétés biologiques | 09 |
| I.1.7.4 Les tanins | 10 |
| I.1.7.4.1 Définition | 10 |
| I.1.7.4.2 Les propriétés biologiques | 10 |
| I.1.7.5 Les anthraquinones, anthracénosides et émодоles | 10 |
| I.1.7.5.1 Définition..... | 10 |
| I.1.7.5.2 Les propriétés biologiques..... | 11 |
| I.1.7.6 Les coumarines..... | 11 |
| I.1.7.6.1 Définition..... | 11 |
| I.1.7.6.2 Les propriétés biologiques..... | 11 |
| I.1.7.7 Les alcaloïdes..... | 11 |
| I.1.7.7.1 Définition..... | 11 |
| I.1.7.7.2 Les propriétés biologiques..... | 12 |
| I.1.7.8 Les terpénoïdes..... | 12 |
| I.2 Etude botanique..... | 13 |
| I.2.1 monographie de la plante..... | 13 |
| I.2.2 historique..... | 14 |
| I.2.3 Définition | 14 |
| I.2.4 Description de la plante | 15 |
| I.2.5 Systématique et habitat..... | 15 |
| I.2.5.1 Systématique..... | 15 |
| I.2.5.2 Habitat..... | 16 |
| I.2.6 Les propriétés de la plante..... | 16 |
| I.2.7 Caractères généraux des Astéraceae..... | 16 |
| I.2.8 L'appareil reproductif | 17 |

| | |
|--|----|
| I.2.8.1 L'inflorescence | 17 |
| I.2.8.2 La fleur | 17 |
| I.2.8.3 Les fruits..... | 18 |
| I.2.9 classification d'Astéraceae | 18 |
| I.2.10 Répartition géographique | 19 |
| I.2.11 Les caractéristiques botaniques d'Anvillea..... | 19 |
| I.2.12 Usage thérapeutique..... | 20 |
| I.3 Activités biologique | 20 |
| I.3.1 Activité antioxydante | 20 |
| I.3.1.1 Définition | 20 |
| I.3.2 Activité antibactérienne | 20 |
| I.3.3 Activité antifongique | 22 |
| I.4 Les biofilms..... | 23 |
| I.4.1 Les étapes de la formation d'un biofilm..... | 23 |
| I.4.2 Les biofilms et l'homme..... | 24 |
| I.4.2.1 Infection dues aux biofilms..... | 24 |
| I.4.2.2 Résistance des biofilms aux antibiotiques..... | 25 |
| I.4.2.3 Relation entre biofilm et virulence..... | 25 |
| I.4.2.4 Activité anti biofilm..... | 26 |
| Chapitre II : Matériels et méthodes | |
| II.1 Objectif..... | 27 |
| II.2 Matériel | 28 |
| II.2.1 Matériel non biologique..... | 28 |
| II.2.2 Matériel biologique..... | 28 |
| II.2.2.1 Les souches microbiennes..... | 28 |
| II.2.2.2 La plante..... | 29 |
| II.3 Les méthodes..... | 29 |
| II.3.1 Récolte, Séchage, Broyage..... | 29 |
| II.3.1.1 Zones de récolte de plante étudiée..... | 29 |
| II.3.1.2 Séchage et conservation des plantes..... | 30 |
| II.3.2 Screening phytochimique..... | 30 |
| II.3.2.1 Les alcaloïdes..... | 31 |
| II.3.2.2 Les tanins..... | 31 |
| II.3.2.3 Les flavonoïdes..... | 31 |
| II.3.2.4 Stérols et tri-terpène..... | 32 |
| II.3.2.5 Les saponosides..... | 32 |
| II.3.2.6 Les huiles essentielles..... | 32 |
| II.3.2.7 Les glucosidases..... | 32 |
| II.3.2.8 Recherche des coumarines..... | 32 |
| II.3.3 Extraction des polyphénols..... | 33 |

| | |
|---|----|
| II.3.3.1 Extraction à froid ou macération..... | 33 |
| II.3.3.2 Extraction à chaud en continu (Soxhlet)..... | 33 |
| II.4 Rendement d'extraction..... | 35 |
| II.5 Evaluation de l'activité antimicrobienne..... | 35 |
| II.5.1 Principe..... | 35 |
| II.5.2 Revivification des souches microbiennes..... | 36 |
| II.5.3 Préparation de l'inoculum..... | 36 |
| II.5.4 Préparation de la première couche..... | 37 |
| II.5.5 Préparation de la deuxième couche..... | 38 |
| II.5.6 Préparation des extraits..... | 38 |
| II.5.7 Préparation des disques..... | 39 |
| II.5.8 Lecture..... | 39 |
| II.5.9 Analyse statistique..... | 40 |
| II.5.10 Technique d'antibiogramme..... | 40 |
| II.6 Concentration Minimale Inhibitrice et Concentration Minimale Bactéricide..... | 41 |
| Chapitre III : Résultat et discussion | |
| III.1 Screening phytochimique..... | 42 |
| III.2 Calcul du rendement..... | 44 |
| III.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne..... | 44 |
| III.3.1 Evaluation de l'activité antibactérienne..... | 44 |
| III.3.1.1 Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)..... | 47 |
| III.3.2 Réalisation de l'antibiogramme..... | 48 |
| III.3.3 Evaluation de l'activité antifongique..... | 49 |
| III.3.3.1 Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) | 51 |
| Conclusion..... | 53 |
| Références bibliographiques | |
| Annexes | |

Résumé :

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude de la composition chimique, l'activité antibactérienne, et l'effet antifongique d'une plante médicinale de la flore algérienne, dans le but de rechercher de nouveaux produits bioactifs d'origine naturels jouissantes d'activités biologiques notamment les activités antimicrobienne et antifongique. Une plante aromatique provenant des régions de Ouargla (*Anvillea Radiata*) a fait l'objet d'un décryptage phytochimique et biologique de leurs principes actifs. Les analyses phytochimiques à savoir l'analyse qualitative par réaction de coloration/précipitation a révélé la présence de certains métabolites tels que les flavonoïdes, les saponosides, les tanins, les stérols et les stéroïdes. Les résultats de l'analyse quantitative des extraits de la plante étudiée, montre qu'il s'agit d'une plante représentant une source importante des composés phénoliques.

Le rendement est de l'ordre de 6,42 %.

Les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés peuvent servir comme indicateurs importants de la capacité antimicrobienne et être utilisés comme une sélection préliminaire pour n'importe quel produit quand il est destiné comme source naturelle des antimicrobiennes dans les aliments fonctionnels.

Le pouvoir antibactérien des extraits est testé par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Vis-à-vis de quatre souches *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* bactériennes. Les résultats révèlent que l'extrait ethanolique a exercé un effet antibactérien selon l'espèce avec des moyennes. La moyenne des diamètres de la zone d'inhibition pour ces bactéries est de $23 \pm 2,82$; $27,5 \pm 3,53$; $30 \pm 7,071$ et $23 \pm 2,82$ respectivement.

L'étude antifongique des extraits testés par la méthode de diffusion en milieu gélosé sur les souches *Saccharomyces Cerevisiae* et *Candida Albican* a signalée aussi des résultats importants et significatifs soit 25 % et 10,33% pour *Saccharomyces cerevisiae* et de 23,66% et 8,66% pour *Candida albican*

Mots clés : *Anvillea Radiata*, Asteraceae, activité antifongique, activité antibactérienne, screening phytochimique.

Abstract :

This work is part of the study of the chemical composition, the antibacterial activity, and the antifungal effect of a medicinal plant of Algerian flora, with the aim of researching new bioactive products of natural origin. Enjoying biological activities including antimicrobial and antifungal activities. An aromatic plant from the regions of Ouargla (*Anvillea Radiata*) has undergone a phytochemical and biological decryption of their active ingredients. Phytochemical analyzes namely qualitative analysis by color / precipitation reaction revealed the presence of certain metabolites such as flavonoids, saponins, tannins, sterols and steroids. The results of the quantitative analysis of extracts from the plant studied show that this is a plant representing an important source of phenolic compound.

The yield is in the order of 6.42%.

The contents of polyphenols, flavonoids and condensed tannins can serve as important indicators of antimicrobial capacity and be used as a screening for any product when it is intended as a natural source of antimicrobials in functional foods.

The antibacterial power of the extracts is tested by the agar medium diffusion method. With respect to four bacterial strains *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*. The results show that the ethanolic extract exerted an antibacterial effect depending on the species with averages. The average diameter of the zone of inhibition for these bacteria is 23 ± 2.82 ; 27.5 ± 3.53 ; 30 ± 7.071 and $(23 \pm 2.82$ respectively).

The antifungal study of the extracts tested by the method of diffusion in agar medium on the *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida Albican* strains also reported important and significant results, i.e. 25% and 10.33% for *Saccharomyces cerevisiae* and 23.66% and 8, 66% for *Candida Albican*

Key words : *Anvillea Radiata*, Asteraceae, antifungal activity, antibacterial activity, phytochemical screening.

Introduction :

Depuis la nuit des temps, la première préoccupation de l'Homme fut de satisfaire ses besoins en nourriture. Très vite, il dut lutter contre la maladie ou le mal-être qui affectaient son corps et son esprit face à la maladie, il a recherché dans son environnement les plantes, les animaux ou les minéraux qui pouvaient le soulager. Ceux qui ont découvert les premières plantes efficaces contre la douleur eurent la reconnaissance immédiate de leur entourage et furent considérés comme les premiers guérisseurs (**Fleurentin et Hayon, 2007**).

Si la médecine par les plantes connaît un engouement extraordinaire à travers le monde, il est impossible de ne voir là qu'un phénomène de mode. Bien sûr, notre époque est profondément marquée par la recherche d'une vie plus saine, dont le retour à la nature, aux valeurs essentielles. Mais, le succès de la phytothérapie s'explique avant tout par le niveau de maîtrise technique et scientifique que l'on atteint désormais dans ce domaine. L'agronomie, la chimie, la pharmacologie ont permis en progressant, de mettre au point des formes thérapeutiques et galéniques plus sûres, plus adaptées, et plus efficaces.

Par son action en douceur et en profondeur, la phytothérapie apparaît d'autre part comme la réponse idéale aux "maladies du siècle" qui caractérisent nos sociétés, comme le stress, la perte du sommeil ou la prise de poids.

Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Elles constituent une source importante de molécules bioactives qui font généralement partie des métabolites secondaires (**Haddouchi et al., 2014**). Face à l'apparition de formes résistantes de plusieurs bactéries à certains antibiotiques, la recherche de nouvelles molécules actives et à large spectre d'action est devenue une nécessité (**Haddouchi et al., 2013**). Une des stratégies pour cette recherche consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle (**Chaouche et al., 2013**).

Le médicament à base de plantes est un complexe de molécules, issu d'une ou plusieurs espèces végétales. De nombreuses formes galéniques sont aujourd'hui proposées, certaines plus innovantes que d'autres, laissant l'infusion originelle plus ou moins désuète. Pourtant ces changements de forme peuvent parfois cacher des modifications quant à l'action sur le métabolisme ou la biodisponibilité des principes actifs. Une brillante progression est donc promise à la phytothérapie, grâce aux techniques modernes de fabrication, d'analyse et avec la

Introduction :

collaboration de toutes sortes de discipline. La formation du pharmacien lui permet de considérer tous les aspects de l'étude. Mais, il est important de les approfondir de façon continue, par diverses documentations, au fil du temps. **(Jean-Yves Chabrier, 2010)**.

Bellakhdar (1997) a réalisé un travail sur les propriétés phytochimiques sur *Anvillea radiata* du Maroc. Toujours au Maroc dans la région de (Tafilalet), **El-Rhaffari et Zaid** (2002), ont touché aux effets biologiques de cette plante.

L'objectif de cette étude est de rechercher des substances actives d'origine végétale, qu'il s'agisse de molécules pures ou d'extraits au sens large comme les préparations phytothérapeutiques ou les huiles essentielles. Ces substances présentent un potentiel pour le développement de nouveaux traitements contre les maladies infectieuses, causées en particulier par des bactéries, des champignons ou des parasites. Ces pathologies représentent effectivement toujours un problème de santé publique majeur malgré les progrès de la médecine, et ce en particulier dans les pays en voie de développement, du fait de la faible disponibilité des traitements et du développement des phénomènes de résistance **(Cos et al., 2006)**. Dans ce cadre, ce travail va s'intéresser principalement sur une étude phytochimique préliminaire des différentes préparations de la partie aérienne d'*Anvillea radiata* et de l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Ce travail est réparti en trois chapitres. Une synthèse bibliographique est présentée dans le chapitre 1. Le matériel nécessaire et les méthodes utilisées sont exposés dans le chapitre 2. Au niveau du chapitre 3, les résultats obtenus et leur discussion sont détaillés. Enfin, cette étude est clôturée par une conclusion.

I.1 Généralité sur *Anvillea radiata*

I.1.1 L'action des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus. L'action de la médecine moderne soulage les patients de manière indéniable et sauve de nombreuses vies. Les médicaments chimiques peuvent enrayer les infections bien plus efficacement que bien d'autres traitements. De même, les techniques chirurgicales modernes à savoir la chirurgie plastique, la microchirurgie et la réanimation augmentent les chances de vaincre ou de soigner des maladies et des blessures graves (**Iserin, 2001**)

I.1.2 Le pouvoir des plantes

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Depuis le XVIIIe siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. On considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels. La tubocurarine, le relaxant musculaire le plus puissant sont dérivés du curare (*Chondroëndron tomentosum*) la morphine, l'analgésique le plus puissant sont tirés à partir du pavot à opium (*Papaver somniferum*). D'autres anesthésiants proviennent de plantes comme la cocaïne. A titre d'exemple, cette plante est tirée du coca (*Erythroxylum coca*,). Aujourd'hui, il est difficile d'imaginer le monde sans la quinine qui est dérivée du genre Cinchona et employée contre la malaria. On a la digoxine, du genre Digitalis soigne les maladies cardiaques. Ou encore, on note l'éphédrine, du genre Ephédra, que l'on trouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes. Ces trois plantes ainsi que beaucoup d'autres sont largement utilisées par la médecine classique (**Iserin, 2001**)

I.1.3. Des traitements à base des plantes

Si les stratégies adoptées par les phytothérapeutes pour prévenir les maladies ou pour guérir les malades sont différentes selon les nombreuses traditions en usage sur la planète. Ainsi, les effets sur le corps des traitements à base de plantes sont eux identiques. Plusieurs milliers de plantes sont utilisées de par le monde. Leur champ d'action est vaste et leur puissance varie. La plupart ont des effets spécifiques sur certaines parties de l'organisme et sont reconnues pour pouvoir traiter divers cas (**Iserin, 2001**)

I.1.4. Les plantes et le système de régulation

La technique la plus ancienne utilisée pour répertorier les plantes médicinales a consisté à identifier la nature et le degré d'efficacité de leurs actions, selon qu'elles ont des propriétés sédatives, antiseptiques ou encore diurétiques. Souvent, les plantes ont une action plus efficace sur une certaine partie (**Iserin, 2001**)

I.1.5. De la plante au médicament

Comment extraire ce que la plante peut nous apporter afin d'en faire un médicament ?

Les connaissances empiriques accumulées depuis des milliers d'années ont permis la sélection de plantes pour soigner diverses maladies. Certains de ces usages anciens sont aujourd'hui vérifiés par des études scientifiques et ont conduit à l'isolement de nouveaux principes actifs et/ou à la mise sur le marché de médicaments à base de plantes ou d'extraits standardisés. De la plante entière ou des parties de plantes utilisées au départ, on ensuite utilisé des extraits totaux, obtenus par décoction, macération, infusion ou percolation avec différents solvants qui sont liquides secs pour faciliter la prise et standardiser les traitements. Les recherches pharmacologiques et chimiques menées pour identifier les effets de ces extraits et en isoler les molécules actives ont mené à la préparation, souvent par les apothicaires de l'époque, de mélanges de constituants actifs, puis à la purification et à la détermination de structure des composés les plus actifs qui ont alors été commercialisés sous forme purifiée (Figure 1). Ces molécules naturelles ont ensuite servi de modèles pour la synthèse ou l'hémi-synthèse de nouveaux médicaments plus spécifiques, plus actifs, présentant moins d'effets secondaires ou plus facilement brevetables (**Quetin-Leclercq, 2002**).

Parmi les médicaments les plus utiles en médecine et qui ont été récupéré à partir des plantes, on se doit de citer le paclitaxel (taxol). Il s'agit d'un anti tumoral isolé de l'écorce de l'if du pacifique (*Taxus brevifolia*) et de l'artémisinine, qui est un antipaludique isolé d'une plante chinoise (*Artemisia annua*) (**Graham et Depovere, 2002**)

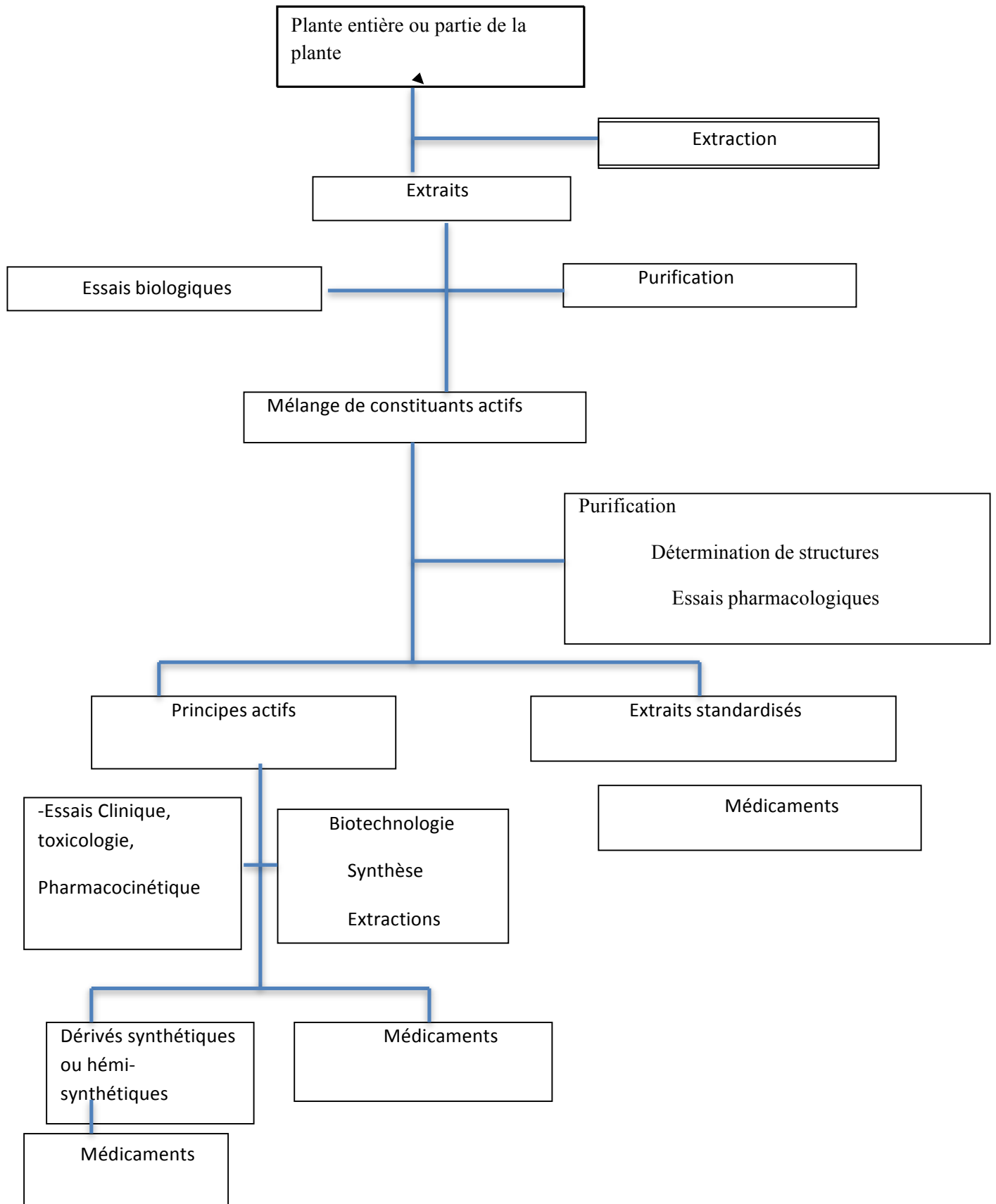


Fig 1. De la plante au médicament (Quetin-Leclercq, 2002)

De la molécule au médicament, les étapes sont nombreuses, les risques d'échec augmentent au fur et à mesure que l'on approche des derniers tests cliniques, à partir du principe actif qui constitue la découverte et qui pourra être breveté, soit une durée de validité du brevet de 20 ans, aussi des premiers tests d'affinité, de sélectivité, de toxicité, et de la mise au point d'une synthèse industrielle efficace et reproductible aux tests précliniques puis cliniques, qui se passera 10 à 15 ans. L'investissement nécessaire varie de 500 millions à 1 milliard d'Euros, avec une probabilité d'échec proche de 95 à 99 % (Albericio, 2010). Ces difficultés techniques peuvent être surmontées par la mise en place de méthode adaptées et de nouvelles stratégies de recherche (Koehn et Carter, 2005). Parmi ces stratégies, se trouvent en particulier les « criblages intelligents », par exemple en utilisant des cibles résistantes aux antibiotiques connus pour éviter un « bruit de fond » (i), l'intervention de la robotique par couplage des techniques de séparation par CLHP, d'analyse par spectrométrie de masse ou RMN et de criblage haut-débit (Shapiro et Gounarides, 1999 ; Isbell *et al.*, 2002 ; Corcoran et spraul, 2003 ; Kingston, 2011), la métabolomique (Verpoorte *et al.*, 2007) ou le développement d'outils biologique comme la métagénomique, qui étudie les gènes et leur fonction dans des échantillons provenant directement de l'environnement, en particulier dans le cas de l'étude des micro-organismes du sol. Cette approche couplée à des techniques de criblage automatisé, permettrait de tester pour une activité biologique de nombreux micro-organismes non encore étudiés (Handelsman *et al.*, 1998 ; Mcali et Benedetti, 2010). Ce type d'outils et de stratégies permettent ainsi à la chimie des substances naturelles de s'inscrire clairement dans le cadre des sciences de pointe, ouvertes vers l'avenir.

I.1.6. Les avantages de la phytothérapie

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, l'Homme n'a eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, de rhume ou de toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques qui sont considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. C'est pourquoi on utilise à nouveau l'absinthe chinoise et surtout son principe actif pour soigner la malaria, lorsque les protozoaires responsables de la maladie résistent aux médicaments. La phytothérapie, qui propose des **remèdes** naturels et bien acceptés par l'organisme est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident,

spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques corps que sur une autre (Iserin, 2001).

I.1.7. Les éléments actifs des plantes (les métabolites secondaires)

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (Alcaloïdes, Terpènes, composés phénoliques ...) qui sont très inégalement répartis chez les végétaux mais dont le niveau d'accumulation peut quelquefois atteindre des valeurs élevées. La notion de «métabolite secondaire » résulte initialement de trois groupes d'observations. On a d'abord une difficulté à attribuer à ces métabolites une fonction précise dans la physiologie même de la plante, ensuite, une répartition très inégale selon les végétaux, quelquefois entre des espèces très voisines ou même entre différentes sous-espèces ou variétés à l'intérieur d'une même espèce, enfin, une certaine « inertie biochimique » car ces substances sont rarement remobilisées dans la plante après qu'elles y ont été accumulées. Cependant, pour les composés phénoliques, la désignation de « secondaire » apparaît aujourd'hui de plus en plus discutable à la lumière des résultats obtenus au cours des vingt dernières années surtout dans le domaine pharmaco- chimique où des effets anticancéreux ont été établis pour certains métabolites secondaires (Macheix *et al.* , 2005)

Ce n'est que récemment, les éléments actifs à l'origine des actions thérapeutiques des plantes ont été isolés et étudiés. Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme (Iserin, 2001)

I.1.7.1 Les phénols

I.1.7.1.1 Définition

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique. Cette molécule donne par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont des agents anti-inflammatoires et des antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. (Iserin, 2001). Les composés phénoliques sont des substances qui constituent une vaste famille, difficile à définir, et sont caractérisées par la présence d'au moins un noyau benzénique lié directement par un groupe hydroxyde libre ou engagé dans une fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneton, 1999).

I.1.7.1.2 Propriétés biologiques

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés. Donc, ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'Homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs tels que l'effet antioxydant, l'effet protecteur contre l'apparition de certains cancers (Macheixet *al.*, 2005).

I.1.7.2 Les flavonoïdes

I.1.7.2.1 Définition

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques généralement produits par cyclisation d'un intermédiaire dérivé de l'acide cinnamique et de trois molécules de molonyl-coA (Figure, 2).

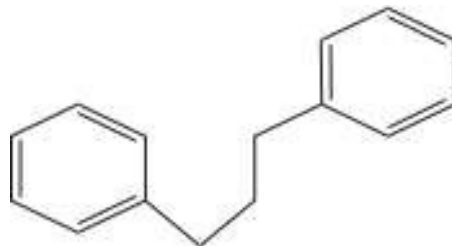


Fig. 2 : Squelette de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base. Ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C). Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6, en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres qui peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Bouhadjera, 2005).

I.1.7.2.2 Propriétés biologiques

Ils interviennent probablement pour protéger les plantes des herbivores et contrôler le transport des auxines (Hopking, 2002).

Présents dans la plupart des plantes, il s'agit de pigments poly-phénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ

d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie. Des flavonoïdes comme l'hespéridine et la rutine, présentes dans plusieurs plantes, dont le sarrasin et le citronnier renforcent les parois des capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins. Les isoflavones trouvés par exemple dans le *Citrus limon* possèdent des effets œstrogéniques, et sont efficaces dans le traitement des troubles liés à la Ménopause (Iserin, 2001).

I.1.7.3 Les huiles essentielles

I.1.7.3.1 Définition

Les huiles essentielles sont des produits obtenus soit à partir des matières premières naturelles par distillation à l'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques (Peyron et Richard, 1992).

I.1.7.3.2 Propriétés biologiques

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie. Ces substances naturelles contenues telles quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpénoïdes et possédant un noyau aromatique. Elles ont de multiples propriétés. L'arbre à thé par exemple est fortement antiseptique. Les huiles essentielles sont à différencier des huiles fixes ou des huiles obtenues par l'hydrolyse des glucides, comme la chamazulène de la camomille allemande formée lors de la distillation. Il est à noter que les résines qui sont des substances huileuses collantes qui suintent des plantes, notamment de l'écorce du pin sylvestre sont souvent liées aux huiles essentielles (oléorésines) et aux gommés (polysaccharides) (Iserin, 2001).

I.1.7.4 Les tanins

I.1.7.4.1 Définition

Les Tanins sont des composés phénoliques de structures variées, ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 g/mol (Cowan, 1999)

Les tanins sont des corps généralement amorphes, solubles dans l'eau et l'alcool, et insolubles dans les solvants organiques apolaires. On les extrait généralement, par des mélanges hydro-alcooliques. Les tanins sont précipités par de nombreux réactifs. Aussi, ils précipitent avec les sels de métaux lourds tels que le fer, le plomb, le zinc et le cuivre (Read *et al.*, 2003).

I.1.7.4.2 Propriétés biologiques

Ce sont des composants poly-phénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines visqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Figure 3). Les écorces de chêne et d'acacia sont riches en tanins (Iserin, 2001).

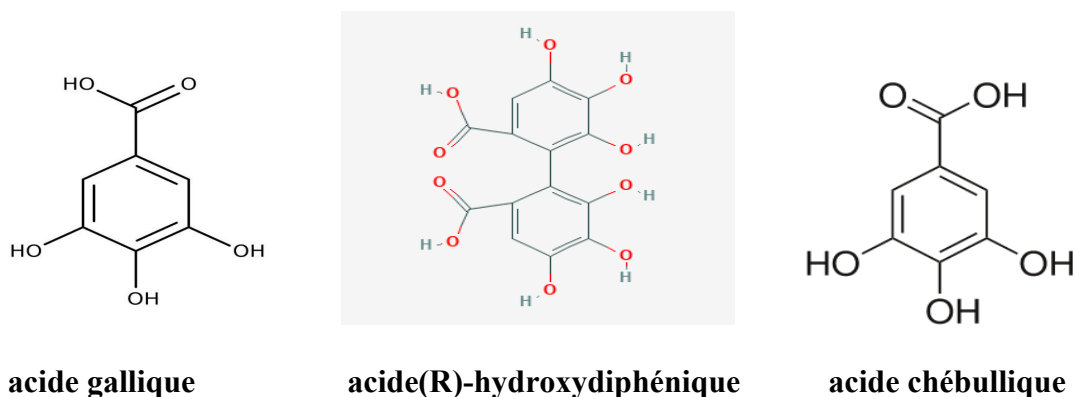


Fig. 3 : structure chimique de quelques acides phénols (Bruneton, 2009)

I.1.7.5 Anthraquinones, anthracénosides et émодols

I.1.7.5.1 Définition

Les anthraquinones sont les principaux constituants des plantes tels que le séné (*Cassia Senna*) et la rhubarbe de Mongolie. Elles appartiennent à la famille des anthracénosides. Ce dernier regroupe tous les composés phénoliques, hétérosidiques et les émодols (dérivés hydroxyanthracéniques) (Bouhadjera, 2005)

I.1.7.5.2 Propriétés biologiques

Le séné (*Cassia senna*) et la rhubarbe de la chine (*Rheum palmatum*) agissent sur la constipation. Ils ont un effet irritant et laxatif sur le gros intestin, provoquent des contractions des parois intestinales et stimulent les évacuations dix heures après la prise. Ils rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal. (Bouhadjera., 2005)

I.1.7.6 Les coumarines

I.1.7.6.1 Définition

La coumarine est une molécule de la famille des **benzopyrone** (Figure 4). Cette molécule de formule brute $C_9H_6O_2$ possède un poids moléculaire de 146,1 g/mol (Pan Tl *et al.*, 2014).

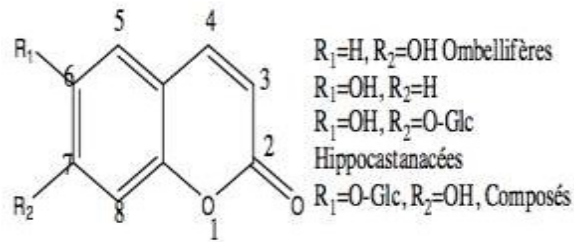


Fig. 4 : squelette de coumarine

I.1.7.6.2 Propriétés biologiques

Cette molécule de formule brute $C_9H_6O_2$ possède un poids moléculaire de 146,1 g/mol. Elle se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche, facilement soluble dans l'éthanol, le chloroforme, l'éther diéthylique et les huiles et peu soluble dans l'eau. On la retrouve aussi bien dans les cosmétiques que dans les produits d'entretien. En ce qui concerne sa fréquence d'incorporation dans ce type de produits, une étude américaine réalisée sur plus de 1000 produits ménagers place la coumarine avec une fréquence d'apparition de 3,5 %, derrière le limonène (23 %), le linalol (20 %), l'hexyl cinnamal (16 %), le butylphényl méthylprioanal (16 %), le citronellol (13 %), le salicylate de benzyle (12 %), le géraniol (10 %), l'alcool benzylique (8 %) et l'alpha-isométhyl ionone (6 %)(**Wieck et al. ,2018**)

I.1.7.7 Les alcaloïdes

I.1.7.7.1 Définition

Les alcaloïdes ont des Structures très divers. Ils dérivent de différents acides aminés ou de l'acide mévalonique en passant par différentes voies biosynthétiques (**Robinson, 1981**).

I.1.7.7.2 Propriétés biologiques

Ils ont une activité biologique chez les animaux, souvent même à très faible concentration, et beaucoup sont couramment utilisés en médecine par exemple à savoir la cocaïne, la morphine et l'atropine. La figure 5 montre quelques classes structurales d'alcaloïdes.

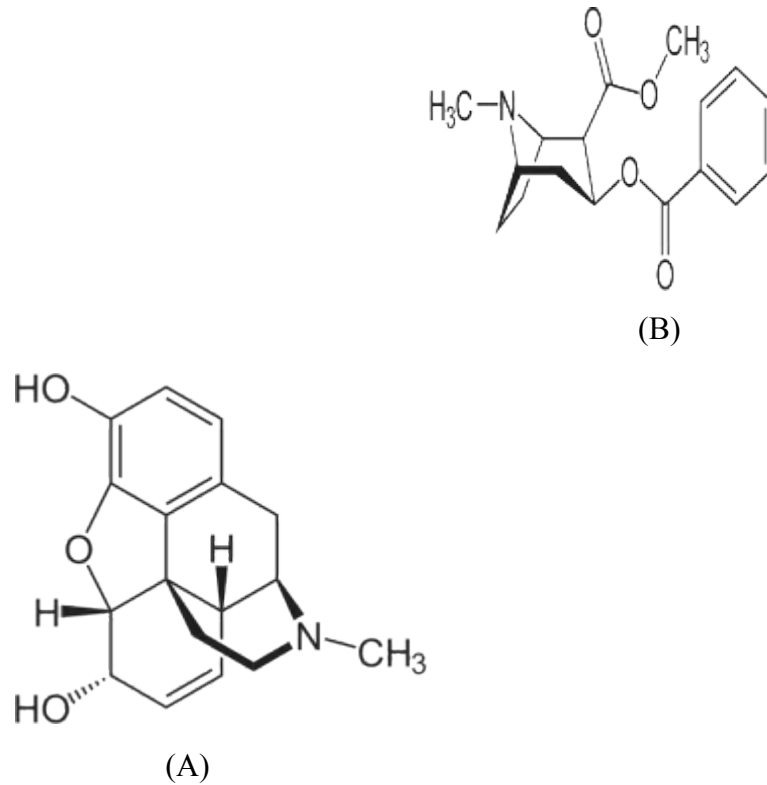


Fig. 5 : Structures chimiques de deux alcaloïdes, la morphine (a) et de la cocaïne (b).

I.1.7.8 Les terpénoïdes

Les terpénoïdes constituent un vaste groupe de métabolites secondaires de structure diverse. Ainsi, ils interviennent dans de nombreuses interactions biotiques (Goodwin, 1971). Ils sont formés par la réunion d'unités pyrophosphate isopenténoïdes à cinq carbones provenant de la voie de l'acide mévalonique. Les terpénoïdes sont très largement distribués et beaucoup possèdent des fonctions physiologiques primordiales, comme élément des stéroïdes liés aux membranes, des pigments caroténoïdes de la chaîne latérale phytyle de la chlorophylle et d'hormones (acide gibbérellique et acide abscissique). En outre, la distribution de quelques types de terpénoïdes a cependant un intérêt pour la taxonomie. Les monoterpénoïdes (Figure 6) et les sesquiterpénoïdes (Figure 7) qui sont des substances volatiles à 10 et 15 carbones sont des principaux composants des huiles essentielles caractéristiques des Magnoliales, des

Laurales, des Illiciales et des Piperales. A ce niveau, on peut aussi citer les Myrtaceae, les Lamiaceae, les Aerbenaceae et les Asteraceae. Ces composés ne se trouvent pas seulement dans les tissus végétatifs, mais aussi dans des glandes florales odoriférantes, où ils sont libérés et fonctionnent souvent comme attractifs floraux. Un autre type de terpénoïdes, les lactones sesquiterpéniques sont surtout connus chez les Asteraceae, ou ces lactones sont diversifiés et utiles pour la taxonomie. Mais, on les rencontre aussi chez d'autres familles, comme les Apiaceae, les Magnoliaceae et les Lauraceae (Shaman, 1982)

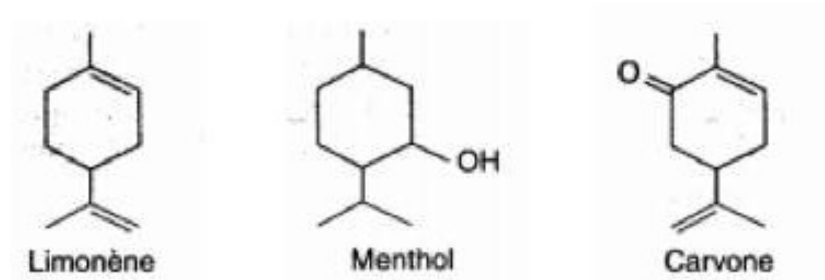


Fig. 6 : exemple de monoterpènes

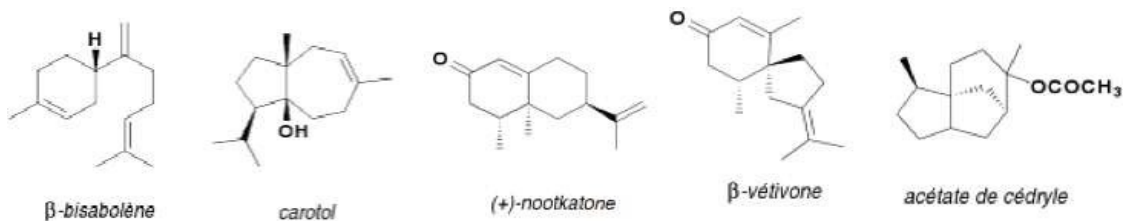


Fig. 7 : quelques exemples des sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles

I.2 Etude botanique

I.2.1 Monographie d'*Anvillea radiata*

Le plan des monographies de plantes s'attache à montrer que la connaissance sur les usages des plantes médicinales s'est transmise non seulement de génération en génération, mais aussi d'une civilisation à l'autre. Les expériences intuitives, empiriques ou déductives ont accompagné l'Homme dans leur recherche du bien-être et de la santé (Fleurentin et Hayon, 2007).

I.2.2. Historique

Elle a été découverte par Anderberg en (1982), *Anvillea garcinii* (Burm.f.) DC. Subsp *radiata* (Coss. & Dur) Anderb.

I.2.3 Définition d'*Anvillea radiata*

Anvillea radiata Coss. & Dur. (Asteraceae) (Ozenda, 1958 ; Quezel et Santa, 1963), est appelée aussi *Anvillea garcinii* Subsp *radiata* (Anderberg, 1982). Ainsi, elle est communément appelée Noug d l'hoor (Hammiche et Maiza, 2006). Elle appartient à la famille des Asteraceae. Cette famille est bien marquée dans leur caractéristique et ne peut pas être confondue avec les autres. Une grande majorité des plantes appartenant à cette famille sont des herbacées. Tandis que, les arbres et les arbustes sont relativement rares (Okunade, 2002)

A.radiata est une plante sauvage distribuée principalement dans les steppes de l'Afrique du Nord surtout le Maroc et l'Algérie (Figure 8). La plante est utilisée dans la médecine populaire comme excellent chauffage, pour le traitement de la dysenterie et des troubles gastrique-intestinaux (Bellakhdar, 1997).



Fig.8 : *Anvillea radiata* (Photo prise par Homrani Bakali.A, 2019)

I.2.4 Description de la plante

Anvillea radiata Coss et Dur est une plante endémique saharienne poussant sous forme d'arbrisseau de 20 à 50 cm de hauteur, très rameux, à tiges et rameaux ligneux à la base. Les feuilles vertes bleutées ont une forme de triangle allongée et à bord denté. Les inflorescences disposées en larges capitules jaunes orangés sont entourées de feuilles rayonnantes qui passent progressivement aux bractées coriaces et piquantes (Figure 9). La plante dégage un léger parfum agréable. Les parties utilisées sont les capitules, les feuilles et les graines (Boullard 2001 ; Quezel 1963).

**La fleur****Les feuilles****Fig. 9 : Inflorescence en capitule d'*Anvillea radiata* (Msanda et Xavier, 2019)**

I.2.5. Systématique et habitat

I.2.5.1 Systématique

Anvillea radiata est classée comme suit selon : (Quezel et santa, 1963) (Tableau 1)

Tableau 1 : Systématique d'*Anvillea radiata*

| | |
|---------------------------|-------------------------|
| Embranchement | Spermaphytes |
| Sous-embranchement | Angiospermes |
| Classe | Eudicots |
| Sous classe | Gamopétales |
| Ordre : | <i>Asterales</i> |
| Famille | <i>Asteraceae</i> |
| Genre | <i>Anvillea</i> |
| Espèce | <i>Anvillea radiata</i> |

I.2.5.2 Habitat

Cette endémique pousse dans tout le Sahara, surtout dans les terrains rocheux et les oueds à sables grossiers

I.2.6 Les propriétés d'*Anvillea radiata*

Elle traite les maux de l'estomac et agit contre les microbes de l'appareil génital des femmes. Ainsi, elle a un effet major sur la régulation du taux de glycémie.

I.2.7 Caractères généraux des Asteraceae

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. Les Asteraceae, anciennement appelées Composées sont une famille appartenant aux dicotylédones comprenant plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces décrites dont 750 sont endémiques. C'est une de la famille la plus importante des Angiospermes. Ce sont presque toujours des plantes herbacées avec souvent des racines charnues soit rhizomateuses, tubéreuses ou pivotantes (Crete, 1965). Cette famille présente des caractères morphologiques divers à savoir herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues (Bonnier, 1934). Bien que généralement, il s'agit de plantes herbacées à feuilles isolées (Crete, 1965). Plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire à savoir le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille, ou comme plantes ornementales. A ce niveau, on a les dahlias, les asters, les rudbeckies et les gaillardes. L'aspect de l'appareil végétatif est trop variable pour

caractériser les Astéracées sur ce seul critère. En revanche, cette famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques présentées par le capitule. La famille représente un type biologique encore jeune et en pleine évolution. Les fruits d'un grand nombre d'espèces

peuvent être portés par les vents à des centaines de milles, et leur distribution devrait, semble-t-il, être toujours très vaste. Le grand intérêt biologique des composées réside dans le capitule, qui est une inflorescence indéfinie, télescopée verticalement, et qui fonctionne comme une seule fleur. Ce pseudo fleur est entouré d'un groupe de bractées qui fonctionne comme un calice. Sur le plan schématique, le capitule possède une composition complète. Ainsi, il introduit dans le milieu ambiant une seule masse florale bien protégée contre les traumatismes, rendue voyante par les rayons corolles de la périphérie, aisément pollinose par le déplacement horizontal des insectes sur la surface plate du disque (**Chalandre, 2000**).

I.2.8 L'appareil reproducteur

I.2.8.1 L'inflorescence

L'inflorescence des Asteraceae est le capitule. Les capitules sont constitués du regroupement de fleurs sessiles sur un même réceptacle. Les fleurs sont de deux types. On a les fleurs tubulées "tubuliflores" et les fleurs ligulées "liguliflores". Le tout donne à l'ensemble d'apparence d'une seule fleur (**Bonnier, 1934 et Chalandre, 2000**).

I.2.8.2 La fleur

Les fleurs des Astéracées, appelées aussi fleurons se présentent sous deux formes. On peut citer les languettes, ou ligules, dans lesquelles les équivalents des pétales sont soudés, généralement par cinq, parfois par trois, reconnaissables seulement à la dent de la languette. Ainsi, il est à noter qu'un pétale prédomine. En outre, les tubes terminés par des lèvres imperceptibles ou s'ouvrent plus ou moins largement en cinq lobes (**Bonnier, 1934; Chalandre, 2000**)

Les fleurs sont donc regroupées en capitules qui peuvent compter plusieurs centaines de fleurs. Les capitules sont parfois réduits à quelques fleurs pour le genre *Achillea* et voire, exceptionnellement à une seule fleur concernant le (genre *Echinops*).(**Bonnier, 1934**)

Les fleurs sont sessiles et aillées par une bractée mère. Le calice est très réduit à une couronne d'arêtes, de soies ou d'écaillés. Ces fleurs à pétales soudées peuvent être tubuleuses. A ce niveau, on parle de fleurons. Elles peuvent être aussi ligulées. A cet effet, il s'agit de demi-fleurons. Très rarement, les fleurs sont bilabiées.

Il y a 5 étamines dont les anthères sont soudées entubes appelé androcée synanthérée. L'ovaire est formé de 2 carpelles. Il est uniloculaire et ne possède qu'un ovule.

(Bonnier, 1934 ; et Chalandre, 2000).

I.2.8.3 Fruits

Il s'agit d'akènes soit des fruits secs indéhiscent et uniséminés. Ces fruits possèdent le plus souvent, un Pappus provenant du développement du calice après la fécondation. (Quezel et Santa, 1963).

I.2.9. Classification Des Asteraceae

On distingue quatre sous familles, la tubuliflores ou carduacées les liguliflores ou chicoracées les labiatiflores et les radiées ou corymbifères (**Tableau 2**) (Bonnier, 1934)

Tableau 2 : Classification d'Asteraceae (Bonnier, 1934)

| Sous famille | tubuliflores | liguliflores | labiatiflores | Radiées |
|------------------------------------|---------------------------------|--|--|--|
| Capitules | homogames | homogames | Homogames ou hétérogames | hétérogames |
| Fleurs | Tubuleuse s Fleurons | Ligulées à 5 dents Demi-Fleurons | Bilabiées en périphérie Tubuleuses au centre ou seulement Bilabiées | Ligulées à 3 dents à la périphérie, tubuleuses au centre |
| Libre interne | non | non | Non | Non |
| Canaux sécréteur | Dans l'endoderme dédoublé | non | Non | Dans l'endoderme dédoublé |
| Lactifères | non | Articulés, en Réseau | non | Non |
| Cellules sécrétrices isolée | Dans le liber de latige | non | non | Non |
| Canaux Oléifère | oui | oui | oui | Oui |

I.2.10 Répartition géographique

Anvillea radiata habite généralement les petites dépressions sablo-argileuses (Ozenda, 1977). Ainsi, elle est distribuée dans les steppes de l'Afrique du Nord particulièrement au Maroc et en Algérie (Figure 10), en particulier dans les régions de Ouargla, El Oued, Ain Defla, d El), El Delfa, Bechar et El Golia (Hadj *et al.*, 2003; El Hassani *et al.*, 2004; Djellouli *et al.*, 2013; Mebarkiet *et al.*, 2013)

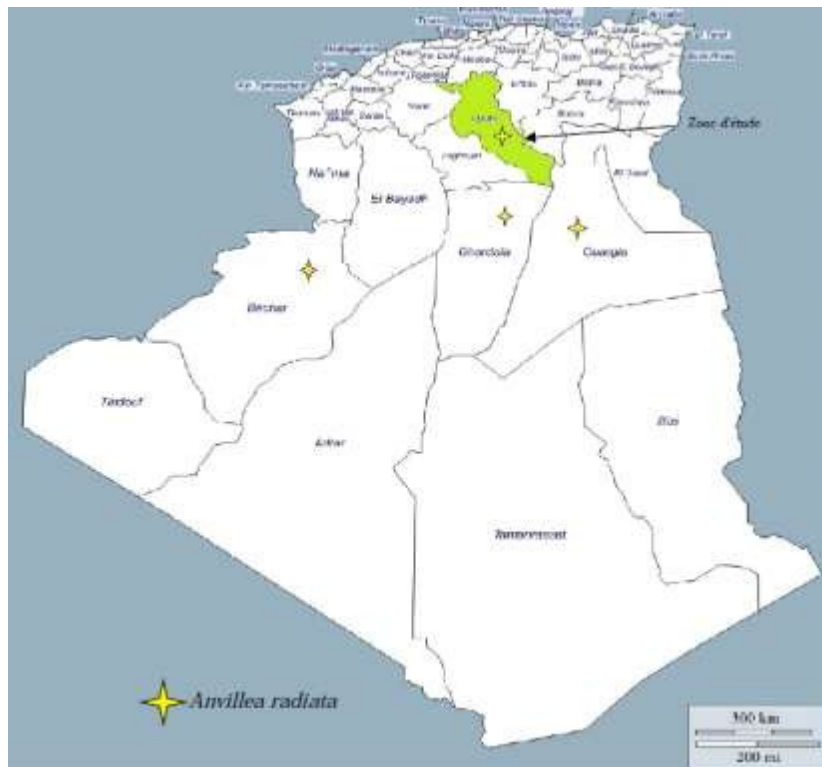


Fig. 10 : Répartition géographique de la plante *Anvillea radiata* en Algérie

I.2.11. Les caractéristiques botaniques d'*Anvillea*

Anvillea radiata est un arbuste très ramifié de 20-50 cm à tiges et rameaux ligneux à la base à feuilles en triangle allongé, atténuées à la base en pétiole, et à limbe fortement denté. Le capitule est grand, de 4 à 5 cm de diamètre y compris les longues ligules, entouré de feuilles supérieures rayonnantes qui passe progressivement aux bractées. Celles-ci sont coriaces. Les fleurs sont toutes jaune-orangé. Les paillettes de réceptacle tronquées au sommet et prolongées en une soie. Ceux de la périphérie sont à trois angles. Alors que ceux du centre possède quatre angles (Ozenda, 1977; et Quezel et Santa, 1963).

I.2.12. Usage thérapeutique

La poudre des feuilles d'*Anvillea radiata* associée au beurre des chèvres est utilisée comme des suppositoires pour traiter le froid du dos. La poudre des feuilles est employée contre les maux gastriques. *Anvillea radiata* est utilisée dans la médecine traditionnelle comme pour le traitement du refroidissement pulmonaire, indigestion et troubles gastriques. Elle a été rapportée comme plante à activité hypoglycémique. Selon la tradition locale, l'infusion ou la macération des feuilles et des tiges d'*Anvillea radiata* est utilisée dans le traitement de la pathologie broncho-pulmonaire, et la pathologie digestive, les troubles gastro-intestinaux, l'indigestion et les maladies du foie (**Hammiche et Maiza 2006**). Les pousses d'*Anvillea radiata* en infusion à froid ou à chaud sont utilisées comme remède contre le diabète (**Ghourri et al., 2013; Fakchich et Elachouri 2014**).

I.3 Activités biologiques

I.3.1 Activité antioxydante

I.3.1.1 Définition

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat (**Barnoud et al., 2002**)

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres en piégeant ces derniers, en captant l'électron célibataire, et en les transformant en molécules ou ions stables (**Benbrouk et charle, 2005**)

L'activité antioxydante peut être primaire ou préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont capables de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, empêchant ainsi la destruction des structures biologiques. Ils peuvent agir comme agents réducteurs capables de passer leurs électrons aux ROS et les éliminer (**Kohen et Nyska, 2002**). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complication des ions métalliques ou la réduction d'oxygène (**Madhavi et al., 1995**).

I.3.2. Activité antibactérienne

Un agent antimicrobien est une substance d'origine synthétique ou naturelle, utilisée pour la destruction ou l'inhibition de la croissance de micro-organismes, notamment des bactéries (**Courvalin et al, 1999**). Beaucoup de plantes aromatiques et leurs huiles essentielles montrent une activité antimicrobienne qui pourraient empêcher la croissance des

microorganismes d'altération et pathogènes, améliorant de ce fait la sécurité alimentaire (**Sacchetti et al, 2005 ;Souza et al,2006**). L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est principalement liée à leur composition chimique, en particulier de leurs composés volatils majeurs. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des huiles essentielles. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des huiles essentielles ait son propre mécanisme d'action. Les caractéristiques des huiles essentielles sont attribuées aux dérivés terpénoïdes et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. L'activité de ces molécules bioactives dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées (**Guinoiseau, 2010**). Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction (**Wendakoon et Sakaguchi, 1995 ;Tsuchiya et al, 1996**). Egalement, une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intra-cytoplasmique peuvent subvenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de L'ATP, et du phosphate inorganique (**Tsuchiya et al .,1996 ;Daroui, 2011**). D'une manière générale, l'action des huiles essentielles se déroule en trois phases (Figure 11). La première phase est l'attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle. Elle provoque ainsi une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires. La deuxième est l'acidification de l'intérieur de la cellule, le blocage de la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure. La dernière phase est la destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie

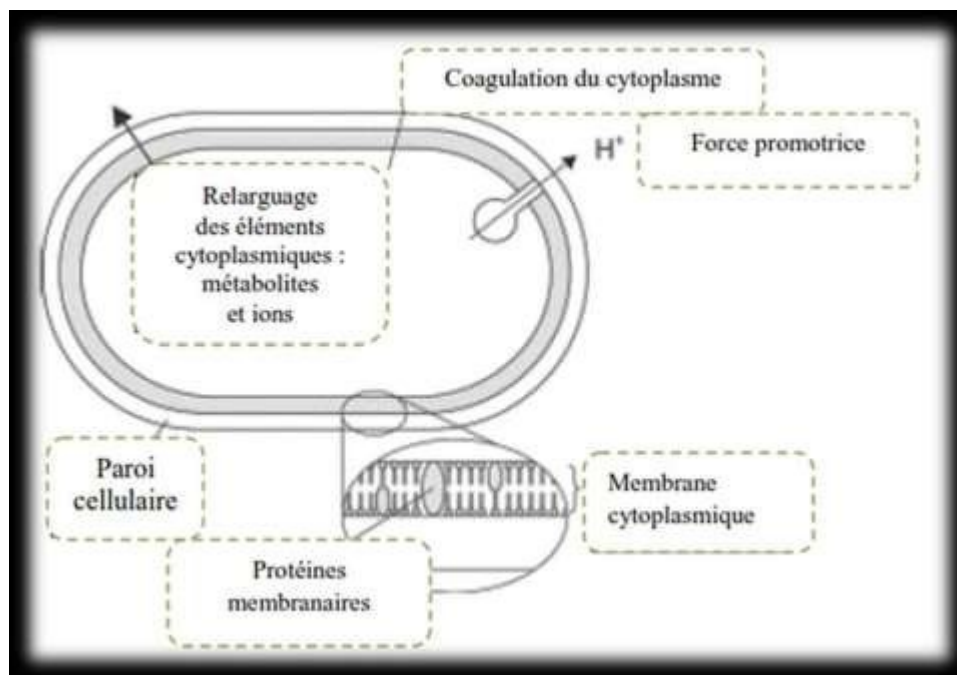


Fig.11 : Les Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne

(Bakkali, 2008)

I.3.3. Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les extraits de plantes ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**Lis-Balchin et Lavender, 2003**). Les extraits végétaux agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures. L'étude de l'effet fongicide et fongistatique des extraits de plantes vis-à-vis de champignons pathogènes a fait l'objet de plusieurs travaux (**Karaman et al, 2001 ; Duarte et al., 2005**). Comme pour l'activité antibactérienne, le pouvoir antifongique est attribué à la présence de certaines fonctions chimiques dans la composition des huiles essentielles. L'action antifongique de ces composées est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (**Cox et al, 2000**).

En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes

membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (**Knobloch, 1989**). Ils ont constaté également que les alcools et les lactones sesquiterpéniques avaient une activité antifongique.

I.4 Les biofilms (9)

Les biofilms sont des structures hétérogènes constituées par des populations bactériennes englobées dans une matrice extracellulaire, fixées sur des surfaces naturelles ou artificielles. Les principales caractéristiques du biofilm sont rappelées et les techniques d'études sont présentées. Elles ont permis d'établir un modèle du développement des biofilms en cinq étapes. On a l'adhésion réversible des bactéries de la phase planctonique à une surface, l'irréversibilité de l'adhésion correspondant à la synthèse de structures à la surface des bactéries, la formation de micro colonies, puis le développement de ces micro colonies traduisant le stade de maturation du biofilm et la colonisation de nouvelles surfaces. Les coopérations métaboliques entre cellules et les échanges d'informations sont évoquées. Les aspects négatifs des biofilms sont décrits dans le domaine de la santé humaine et vétérinaire et celui de l'industrie. Mais, ils jouent également un rôle écologique capital et contribuent très largement au bon fonctionnement de la plupart des écosystèmes, en participant notamment aux cycles du carbone, de l'eau et de l'azote (**Roux et Ghigo, 2006**).

I.4.1 Les étapes de la formation d'un biofilm

L'observation directe des biofilms par microscopie, lors des nombreuses études génétiques réalisées sur les biofilms a conduit à un modèle de développement en cinq étapes (Figure 12). Après le conditionnement très rapide de la surface, les bactéries se déplacent dans le milieu liquide grâce à la force du flux, à la gravitation et/ou aux mouvements de leurs flagelles. Lorsque les bactéries sont au voisinage d'une surface, des forces d'attraction physico-chimiques interviennent et conduisent à une interaction réversible avec la surface. Dans un second temps, à mesure que les cellules se divisent, le nombre de bactéries associées à la surface augmente et l'adhésion devient irréversible. Cette transition vers une adhésion irréversible correspond à la synthèse de structures à la surface de la bactérie, qui s'accompagne d'une profonde modification du profil d'expression des gènes (**Schembri et al., 2003; Beloin et al., 2004; Ren et al., 2004**). Les bactéries forment alors des amas à la surface et produisent des poly saccharides extracellulaires. La troisième étape est caractérisée par la formation de micro-colonies composées à la fois des bactéries initiales qui se divisent et de bactéries qui s'attachent sur le biofilm en formation. Enfin, le stade de maturation correspond

au développement des micro-colonies et à la structuration du bio-film. Il est à noter que les micro-colonies se développent en piliers d'épaisseur variable au sein desquels les cellules sont englobées dans la matrice extracellulaire. Les espaces séparant les micro-colonies deviennent les canaux du biofilm à l'intérieur desquels les fluides nutritifs peuvent circuler. Certaines bactéries peuvent se détacher du biofilm mature et rentrer dans la phase de dissémination. Cette dernière étape permet la colonisation de nouvelles surfaces.

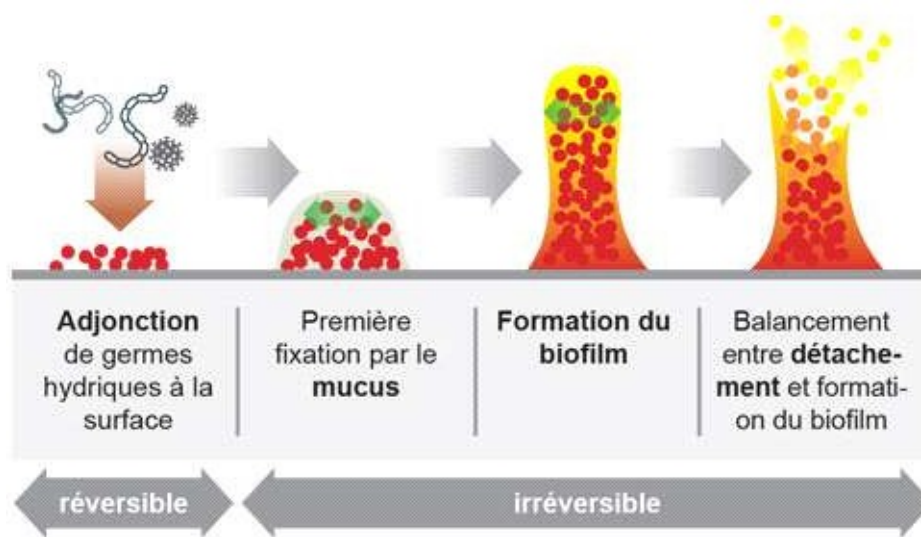


Fig 12 : Les étapes de la formation d'un biofilm (Roux et Ghigo, 2006)

I.4.2. Les biofilms et l'Homme

I.4.2.1. Infections dues aux biofilms

Les biofilms sont responsables d'infections chroniques et posent de nombreux problèmes dans le domaine médical. Les infections liées à des biofilms touchent majoritairement les personnes légèrement ou fortement immunodéprimés et impliquent souvent des bactéries commensales comme *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Costerton *et al.*, 1999). Caractérisées par des symptômes qui surgissent de façon récurrente, elles contribuent de manière très importante aux infections nosocomiales. En effet, les biofilms ont la capacité de se développer sur divers instruments médicaux sondes urinaires, cathéters veineux, tubes de ventilation artificielle et prothèses orthopédiques. Dans la majorité des cas, la seule solution efficace est le retrait de l'instrument infecté. D'autre part, la contamination des systèmes de climatisation, de ventilation et de distribution d'eau par des biofilms abritant des microorganismes pathogènes, contribue à la propagation des infections en milieux hospitaliers ou non hospitaliers, mais également dans les environnements

agroalimentaires où les biofilms sont une source importante de nuisance (**Donlan et Costerton., 2002**).

I.4.2.2. Résistance des biofilms aux antibiotiques

De nombreux problèmes associés au développement des biofilms en milieu médical, ont pour origine leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens (antibiotiques et désinfectants). Cette résistance accrue, multifactorielle, est liée aux conditions de vie dans le biofilm (hétérogénéité, accès aux nutriments, oxygène etc.), elles modifient les propriétés physiologiques des micro-organismes et induisent des mécanismes de résistance spécifiques qui s'ajoutent aux mécanismes de résistance connus. La résistance élevée des biofilms aux agents antibactériens pourrait également reposer sur la présence d'une sub-population de bactéries résistantes, capables de résister à de fortes concentrations d'antibiotiques. Ainsi, alors que les progrès de la médecine moderne permettent de lutter efficacement contre de nombreuses maladies infectieuses, celles qui sont liées à la présence de biofilms, échappent largement à ce type de traitements. Les antibiotiques sont en effet très peu efficaces contre les biofilms et les symptômes peuvent réapparaître une fois le traitement fini (**Lewis., 2005**).

I.4.2.3 Relation entre biofilm et virulence

Le lien entre la capacité d'une souche à former un bio-film et sa virulence est souvent présenté comme direct. Néanmoins, des études récentes ont mis en évidence que les signaux environnementaux réguleraient, de manière opposée, les capacités des bactéries à former un biofilm ou à être virulentes. Ce mécanisme de régulation offrirait aux bactéries une plus grande adaptabilité vis-à-vis des stress environnementaux. Au cours de la phase planctonique d'infection, les bactéries libèrent des facteurs de virulence et altèrent les tissus de l'hôte. Une fois dans un environnement adapté, les bactéries peuvent s'implanter et persister sur une surface via l'expression de facteurs impliqués dans la formation de biofilms (**Goodman et al., 2004**).

Ces résultats suggèrent que le biofilm joue un rôle dans la persistance des bactéries dans un environnement donné et non directement dans le mécanisme infectieux. Les biofilms constituent ainsi des réservoirs d'infections. Chez les personnes atteintes de mucoviscidose, par exemple, la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* infecte les tissus pulmonaires. L'infection s'établit de manière chronique et conduit à des endommagements mortels du tissu pulmonaire. La persistance de l'infection serait liée à la présence de la bactérie sous forme de biofilms (**Singh et al., 2000**).

I.4.2.4 Activité anti biofilm

Il existe différentes stratégies permettant d'inhiber la formation du biofilm (**Yang et al., 2012**). Celles-ci peuvent prévenir l'adhérence initiale du microorganisme, prévenir la croissance microbienne, empêcher la communication entre les cellules bactériennes, inhiber la synthèse de la matrice polymérique ou bien dégrader cette matrice. Le criblage à haut débit de banques de composés chimiques (naturels ou synthétiques) est utilisé afin d'identifier des produits capables d'interférer avec la formation d'un biofilm ou capables de disperser un biofilm existant (**Landini et al., 2010**). Bien que la plupart de ces produits anti biofilm ne tuent pas les bactéries, elles peuvent toutefois les rendre plus susceptibles à l'action des agents antimicrobiens ou à la réponse immunitaire de l'hôte. La grande majorité de ces produits est toujours au stade expérimental (**Davies et Marques, 2009**).

II.1 Objectif

Le monde végétal comprend une riche réserve photochimique inexploitée qui peut être largement utilisée à la place des produits synthétiques. Les plantes produisent des substances actives ayant des propriétés biologiques, aseptiques ou encore régulatrices de la croissance des plantes et des organismes. Le plus souvent, ces substances actives sont des métabolites secondaires appelés polyphénols. A l'origine, ces produits protègent les végétaux. Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés biologiques notamment antimicrobiennes ont été répertoriées. Les composés secondaires des plantes sont réputés depuis l'antiquité pour leurs propriétés pharmacologiques et depuis quelques décades l'Homme s'intéresse également à leurs autres activités biologiques. En particulier, ces substances actives sont des métabolites secondaires appelés polyphénols sont souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante productrice contre divers organismes comme les pathogènes et les ravageurs. Ces composés sont très nombreux et variés. Ainsi, certains sont largement distribués, comme les alcaloïdes, les terpènes et les tanins. Le phénomène de la résistance aux antibiotiques des bactéries pathogènes est une question importante touchant la santé humaine et la possibilité d'un traitement efficace des infections causées par ces souches. Par conséquent, les préoccupations des spécialistes pour l'identification et l'utilisation de composés antimicrobiens naturels, issus de matériel végétal sont en augmentation. Les plantes sont une ressource sous-exploitée d'agents antimicrobiens digne de toute l'attention des chercheurs. Il a été déjà démontré le potentiel antibactérien des métabolites secondaires de plantes, à la fois en tant que monothérapie, comme synergistes ou amplificateurs, à côté d'autres agents antibactériens. L'utilisation de composés phytosanitaires et des extraits de plantes comme agents antimicrobiens est un sujet de recherche qui reçoit de plus en plus l'attention ces derniers temps. La recherche moderne sur les agents antimicrobiens à base de plantes trouve son application dans des domaines comme la médecine vétérinaire, la conservation des aliments et la protection des plantes. Il est bien connu que les composés phénoliques, en particulier les acides-phénols et les flavonoïdes sont doués de nombreuses propriétés biologiques et surtout des propriétés antioxydants, anti-inflammatoires, antiparasitaires, antibactériennes, antifongiques et antivirales.

Plusieurs travaux scientifiques ont révélé diverses activités biologiques intéressantes des espèces de la famille des Astéracées, c'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail.

L'extraction et la caractérisation ont été effectuées au laboratoire des substances naturelles du Centre de Recherche et de Développement CRD –SAIDAL.

L'étude de l'effet antimicrobien a eu lieu durant la période s'étalant du début de mois de juin au début du mois de juillet 2021 au niveau du laboratoire S 15 de la Faculté des Sciences.

II.2 Matériel

II.2.1 Matériel non biologique

Pour réaliser cette étude, le matériel non biologique utilisé est composé d'un ensemble de réactifs, de produits chimiques, de la verrerie et aussi d'un appareillage. Ils sont présentés dans l'Annexe 01

II.2.2 Matériel biologique

II.2.2.1 Les souches microbiennes

Quatre souches bactériennes et deux champignons (**Annexe 02**) ont été choisis pour leur haute pathogénicité et leur multi-résistance (Tableau 3). Il s'agit d'espèces Gram négatif /ou Gram positif, pathogènes et responsables d'infections grave chez l'Homme et dont la plupart sont résistance aux antibiotiques. Il est à noter que les bactéries sont activées à 37°C par repiquage sur milieu gélosé Muller Hinton (**MH**). Tandis que, les champignons sont mis dans le milieu Sabouraud à 25°C

Tableau 3 : Les souches testées pour l'activité antibactérienne et antifongique

| Famille | Genre et espèces | Gram | Source |
|--------------------|---------------------------------|---------|------------|
| Entérobactériacées | <i>Escherichia coli</i> | Négatif | CRD-Saidal |
| Pseudomonadacées | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Négatif | CRD-Saidal |
| Staphylococacées | <i>Staphylococcus aureus</i> | Positif | CRD-Saidal |
| Bacillaceae | <i>Bacillus subtilis</i> | Positif | CRD-Saidal |
| Saccharomycetaceae | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Positif | CRD-Saidal |
| Saccharomycetaceae | <i>Condida albican</i> | Positif | CRD-Saidal |

II.2.2.2 La plante

La recherche bibliographique entreprise a permis de cibler l'espèce végétale appartenant à la famille des Asteraceae qui sont riches en composés phénoliques. Les critères de choix du matériel végétal reposent sur la disponibilité des plantes en Algérie et sur leur usage en pharmacopée traditionnelle locale. *Anvillea radiata* (Coss et Dur) présentés par les feuilles, les tiges et les fleurs poussent à l'état spontané dans la steppe et le Sahara Algérien.

La récolte de la plante est effectuée très soigneusement de manière à ne pas détériorer les éléments organiques et minéraux présents.

II.3 Les méthodes

II.3.1 Récolte, séchage et broyage

II.3.1.1 Zones de récolte de plante étudiée

Les parties aériennes d'*Anvillea radiata* Coss.et Dur ont été récolté durant le mois d'avril 2021 à Massad (**Tableau 4**), qui se situe entre la commune de Touggourt et celle d'El Hadjira wilaya d'Ouargla située à 820 km au Sud de la capitale Alger. Selon ANRH (2005), les coordonnées géographiques de la ville d'Ouargla sont les suivantes (Figure 13). On a une altitude moyenne de 137 m et une latitude de $31^{\circ}57'$

La sortie s'est faite en présence d'agriculteurs de la région ainsi qu'un groupe de doctorants de l'Université Kasdi Merbah de Ouargla.

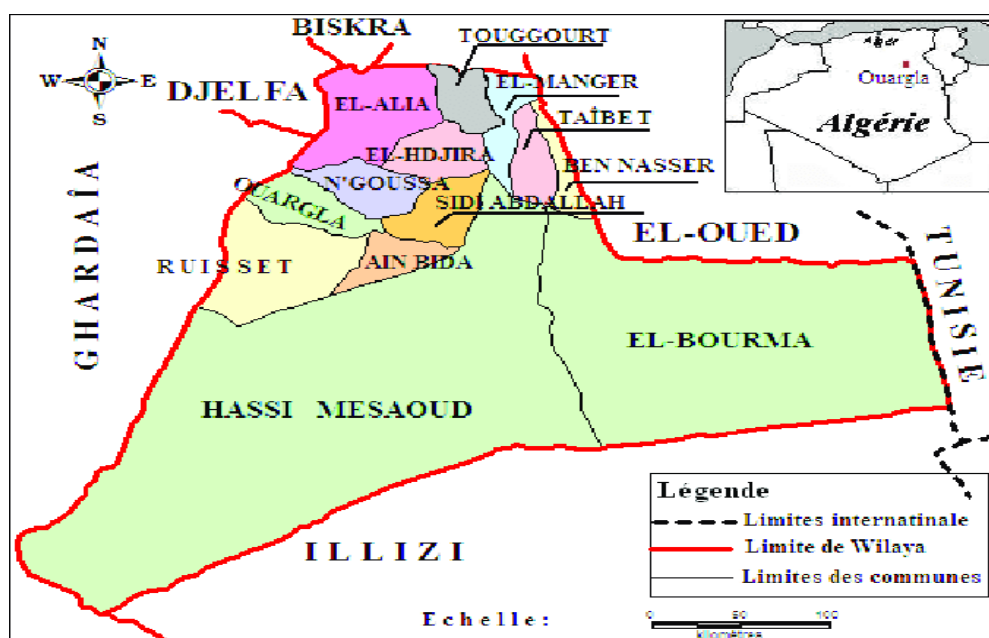


Fig. 13 : Situation géographique de la wilaya d'Ouargla (Faci, 2017).

Tableau 4 : Identité d'*Anvillea radiata*

| Nom scientifique | Nom commun | Famille botanique | Provenance | Partie de la plante utilisée | Stade de développement | Matière extraite |
|--|------------|-------------------|------------|-----------------------------------|------------------------|-------------------------|
| <i>Anvillea radiata</i> Coss. et Dur | Anvillea | Asteraceae | Ouargla | - Feuilles - Fleurs - Tiges | Floraison | -Extrait ethanolique |

II.3.1.2 Séchage et conservation des plantes

Tout la plante à été séchées à l'air libre à température ambiante entre 20 et 25°C dans un endroit sombre pendant au moins 20 jours jusqu'à la déshydratation totale. La matière sèche est broyée à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine (Figure 14). Cette poudre est tamisée et conservée dans des bocaux en verre opaque, afin de préparer les extraits qui feront l'objet de cette étude.



Fig.14 : Poudre d'*Anvillea radiata* Coss et Dur (Originale).

II.3.2 Screening phytochimique

L'analyse phytochimique est réalisée sur la base des tests de coloration caractéristiques en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques. Elle a porté d'une part sur l'extrait de décoction, ethanolique, et d'autres parts sur partitions des drogues des plantes répertoriées. Les différents groupes chimiques ont été caractérisés selon les techniques décrites dans les travaux de (Nemlin et Brunel, 1995 ; Békro et al.,; et Bruneton ,2009). Les résultats sont classés selon présence (+) et absence (-).

On a utilisé l'infusé à 5%. A ce niveau, 5 g de poudre végétale sont introduits dans 100 ml d'eau bouillante et laisser infuser 15 à 30 minutes. Cet infusé est utilisé pour la caractérisation

des tanins et des flavonoïdes. En outre l'extrait ethanologique est employé. 1 g de poudre et 20 ml d'éthanol sont introduits dans un tube à essai et laisser macérer pendant 24 heures. Cet extrait est utilisé ensuite pour la caractérisation des stérols et des tri-terpènes (**Aworet Samseny, 2003**).

II.3.2.1 Les alcaloïdes

On introduit 10 g de poudre végétale sèche dans un Erlenmeyer, à laquelle 50ml de H₂ SO₄ sont dilués au 1/10 avec de l'eau distillée. Ce mélange a été agité et macéré pendant 24 h. Ensuite, dans 1ml du filtrat, 5 gouttes de réactif de Dragendorff sont ajoutées. L'apparition d'un précipité rouge-orangé révèle la présence d'alcaloïdes (**Sandrine, 2005**).

II.3.2.2 Les tanins

La détection des tanins a été faite par l'ajout dans un tube à essai de 5 ml d'infusé à 5%, et 1ml de la solution aqueuse de FeCl₃ dilué à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre. La différenciation des tanins catéchiques et galliques est obtenue par la réaction de Stiasny. A 30 ml d'infusé à 5%, 15 ml du réactif de Stiasny est ajouté (10 ml du formol à 30% + 5 ml HCl concentré). La solution est ensuite chauffée au bain-marie à 90°C. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques. Pour la caractérisation des tanins galliques, on a filtré la solution précédente qu'on a saturée avec une solution d'acétate de sodium et à laquelle on a ajouté quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 1%. Le développement d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny (**Aworet Samseny, 2003**).

II.3.2.3 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été identifiés par la réaction de la cyanidine. 5 ml d'infusé à 5% est mis dans un tube avec 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 95, eau distillée, acide chlorhydrique à volumes égales). Puis, on rajoute quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool iso amylique sont ajoutés. L'apparition d'une coloration rose-orangée (Flavones) ou rose-violacée (Flavonones) ou rouge (Flavonols) au niveau du surnagent d'alcool iso amylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine) (**Aworet Samseny, 2003**).

La réaction de la cyanidine est effectuée une autre fois mais sans l'ajout de magnésium avec un chauffage de quelques minutes au bain Marie. En présence de leuco anthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brun-rouge. Les anthocyanes ont été identifiés comme suit. Dans 5 ml d'infusé à 5%, 5 ml de H₂SO₄ est ajouté 5 ml de NH₄OH. Si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu-violacée en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyanes (**Aworet Samseny, 2003**).

II.3.2.4 Stérols et tri terpènes

Les Stérols et les terpènes ont été identifiés par la réaction de Liebermann-Burchard. Dans une capsule, 10 ml de l'extrait ethanologique est évaporé à sec. Ainsi, le résidu est dissous dans 1 ml d'anhydride acétique, puis dans 1 ml de chloroforme et à recueillir dans deux tubes à essai dont le premier servira de référence. 1 à 2 ml d'acide chlorhydrique concentré est ajouté au fond du tube à essai sans agiter. A la zone de contact des deux liquides, il y'a formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet. La couche surnageant devenant verte ou violette révèle la présence des stérols et de tri terpènes (**Aworet Samseny, 2003**).

II.3.2.5 Les saponosides

Dans une série de 10 tubes à essai de 160 x 16 mm, numérotés de 1 à 10, à répartir successivement 1,2...10ml du décocté à 1% est préparé. Le volume est ajusté dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube est agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de 2 agitations par seconde. Ensuite, on laisse reposer les tubes pendant 15 minutes. Il est à noter que la hauteur de la mousse est mesurée dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm indique la valeur de l'indice de mousse I_m (**Aworet Samseny, 2003**).

$$I_m = 1000/N^\circ \text{ du tube}$$

$$n = \text{numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse est égale à 1cm.}$$

II.3.2.6 Les huiles essentielles

10 ml de l'extrait au dichlorométhane à 1% ont été évaporés à sec. Le résidu est ensuite dissous dans 3 ml d'éthanol. La solution ainsi obtenue est à nouveau évaporée à sec. La sensation d'une odeur parfumée indique la présence d'huiles essentielles (**Ilboudo et al., 2009**).

II.3.2.7 Les glucosides

A 1ml des extraits, 1ml de H₂SO₄ a été ajouté et laissé au repos pendant 2 minutes. Un précipité de couleur rougeâtre indique la présence de glycosides (**Archana et al., 2012**).

II.3.2.8 Recherche des coumarines

On fait bouillir à reflux 2g de poudre dans 20ml d'alcool éthylique pendant 15 minutes. Puis, on filtre. A 5ml de filtrat, on ajoute 10 gouttes de la solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) à 10% et quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCL) à 10%. La formation d'un trouble indique la présence des coumarines (**Archana et al., 2012**).

II.3.3 Extraction des polyphénols

L'extraction des principes actifs de la plante peut se faire par deux différents procédés.

II.3.3.1 Extraction à froid ou macération

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, habituellement à température ambiante. L'opération bien que généralement longue et à rendement souvent médiocre, elle est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles. Pour être efficace, une macération sans agitation peut durer de 4 à 10 jours environ. Ceci peut présenter quelques inconvénients, termes de fermentation ou de contamination bactérienne notamment si le solvant utilisé est de l'eau. Aussi, ces phénomènes peuvent entraîner une dégradation des molécules actives. En vue d'éviter ou de réduire ces inconvénients, la macération peut être opérée dans un récipient couvert. Il est à mentionner que le tout est mis à l'abri de la lumière et dans certains cas, il est maintenu dans le réfrigérateur. Donc la macération consiste à laisser la poudre de la matrice végétale en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui a l'avantage de préserver les substances thermosensibles. Elle se déroule en 3 étapes (Figure 15) : macération, filtration et concentration au rota-vapeur (**Groubert, 1984; Leybros et Frémeaux, 1990**).

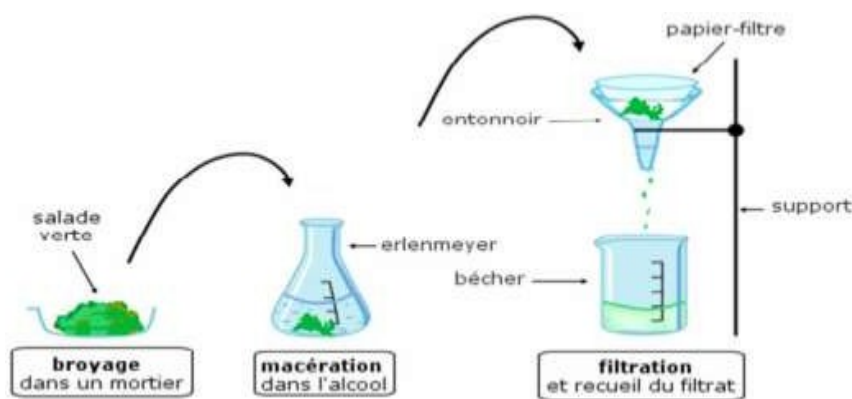


Fig. 15 : Les étapes de la macération

II.3.3.2 Extraction à chaud en continu (Soxhlet)

Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée pour extraire les molécules aromatiques de la plante. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au sommet du tube siphon. Ceci provoque alors le retour du liquide dans le ballon accompagné des substances extraites (Figure 16). Le solvant contenu dans le ballon

s'enrichit progressivement en composés solubles. La taille du corps en verre est limitée. Ainsi, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extrait (Herodez ,2003)

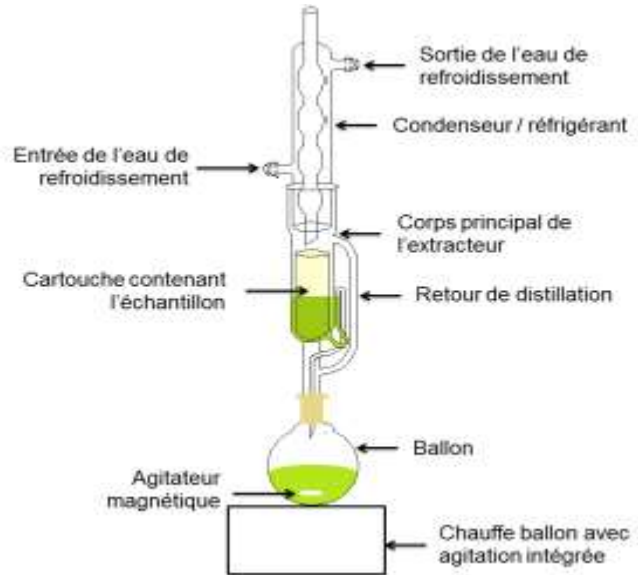


Fig. 16: Montage Soxhlet (CRD-SAIDAL, 2021)

La décantation consiste à porter le mélange poudre solvant à ébullition au bain Marie. Ce procédé présente l'avantage d'en extraire le maximum de principes actifs. Mais, les molécules thermolabiles risquent de se détériorer à cause de la chaleur. Cette technique se passe en ces étapes à savoir l'ébullition, la filtration et enfin la centrifugation (Chavane et al., 2001).

L'extraction Soxhlet utilisée pendant des décennies est une technique standard qui sert de référence pour évaluer les résultats d'autres méthodes d'extraction solide –liquide. C'est la technique qui permet d'avoir les meilleurs rendements parmi les techniques classique (Luque et Gracia, 1998). L'utilisation de différents solvants donne lieu à des extraits ayant différente composition (Zamowski et Suzuki, 2004). Par exemple, l'hexane est le solvant le plus couramment utilisé pour extraire les huiles comestibles de plantes

L'extraction par Soxhlet présente des avantages. On note que l'échantillon est en contact de manière répétée avec le solvant frais déchargé des solutés déjà extraits. Ainsi l'extraction est effectuée avec du solvant chaud favorisant la dissolution des composés recherchés. Aussi, aucune filtration n'est nécessaire après l'extraction (Luque et Gracia, 1998)

Cette méthode a aussi certains inconvénients comme la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée. Ceci conduit non seulement à des pertes économiques. Mais, il pose aussi des problèmes sur le plan environnemental. Les échantillons sont portés à haute température pendant une période relativement longue. A cet effet, le risque

de thermodestruction des molécules recherchées n'est pas à négliger. Un autre inconvénient majeur de l'extraction par Soxhlet est qu'elle n'est pas appropriée, lorsque des mélanges sont utilisés comme solvants (Penchev,2010).

II.4 Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par (Falleh *et al.* ,2008).

$$R(\%)= (M_{ext}/M_{éch}) * 100$$

R : le rendement en %

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg

M_{éch} : la masse sèche de l'échantillon végétal en mg

II.5 Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'extrait ethanologique d'*Anvillea radiata* a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé contre quatre bactéries de références, une levure et une moisissure.

II.5.1.Principe

Le principe d'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits consiste à réaliser une culture bactérienne sur milieu solide, en présence de disques imbibés d'extraits de concentrations différentes. Si les extraits ont une activité antibactérienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque (Figure 17). Le diamètre de cette zone d'inhibition est proportionnel à l'efficacité de l'activité antimicrobienne de l'échantillon (Fattouch *et al.*, 2007).

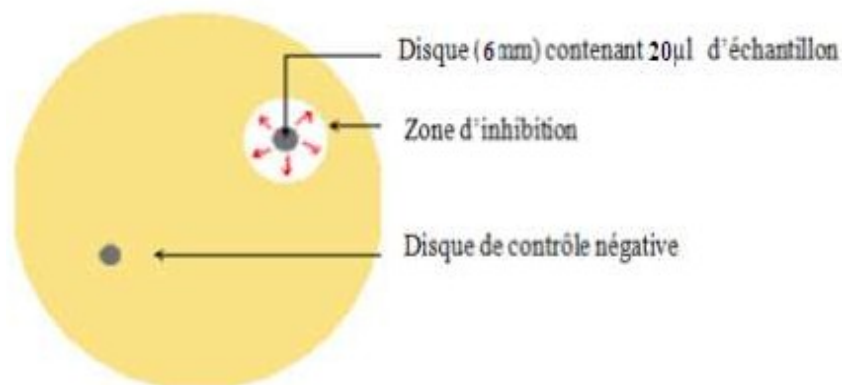


Fig.17 Principe de d'évaluation de l'activité Antibactérienne (Fattouch *et al.*, 2007).

II.5.2 Revivification des souches microbiennes

Les souches fournies sur des milieux de gélose de conservation ont été revivifiées par la méthode des stries sur le milieu gélose nutritif(GN), Muller-Hinton (M-H) (Figure18) pour les bactéries et Sabouraud pour la levure et le champignon (**Annexes 03**). Il est à noter que les bactéries sont incubées à 37°C pendant 24h. Par contre, les levures sont incubées à 25°C pendant 48 à 72 h et entre 72 à150 h pour les champignons (Figure19) (**pharmacopée Européenne, 2002 ; Lamri et Akhzerou, 2019**)



Fig. 18 : Ensemencement des souches



Fig. 19: Incubation des souches dans l'étuve

II.5.3. Préparation de l'inoculum

Dans le but d'obtenir une culture jeune, 3 à 5 colonies bien isolées et identiques sont prélevées et émulsionnées dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% afin d'avoir des suspensions microbiennes(Figure20) ayant une turbidité voisine à celle de Mc Ferland 0,5 (10⁶ UFC/ml). Puis, on agite à l'aide d'un vortex, La concentration de la suspension a été lue à

l'aide d'un spectrophotomètre, par l'estimation de la transmittance à une longueur d'onde de 620 nm. Cette transmittance doit être comprise entre 0,08 et 0,1 pour les bactéries (Labiod, 2016) et entre 2% et 3% pour les levures. Si la valeur de la transmittance lue est comprise dans les intervalles cités ci-dessus, la concentration de la suspension est optimale. Ceci s'interprète qu'elle contienne 10^7 à 10^8 germes/ml. Si la valeur de la transmittance ne fait pas partie des deux intervalles cités, on ajuste la concentration, soit en ajoutant des colonies si elle est inférieure à la valeur minimale, soit de l'eau physiologique si elle est supérieure à la valeur maximale.

L'inoculum doit être utilisé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation. La préparation de la première couche (pharmacopée Européenne, 2002 ; Lamri et Akhzerouu, 2019)

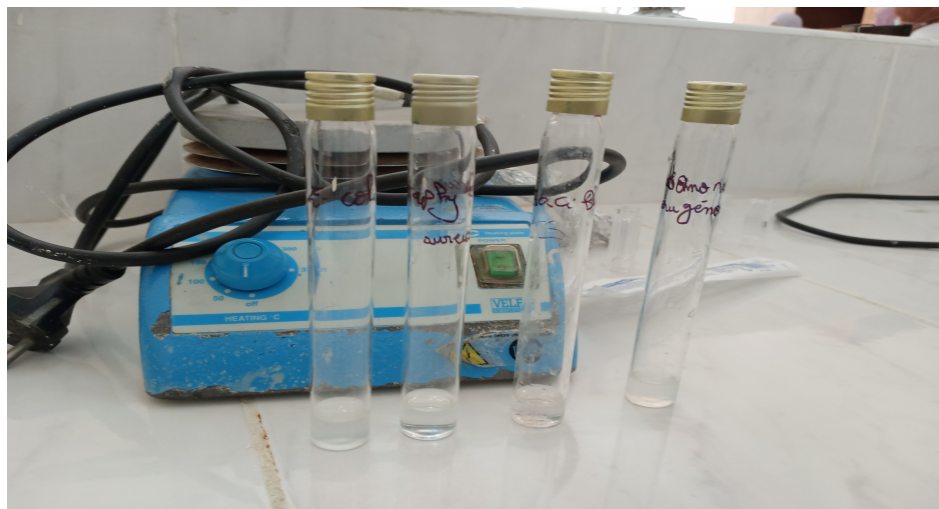


Fig.20 : L'inoculum bactérien

II.5.4 Préparation de la première couche

Les milieux gélosés Muller-Hinton (MH) et Sabouraud (SAB) sont fondus dans un Bain-marie à 95°C. On verse aseptiquement une première couche dans les boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte. On Les laisse refroidir et solidifier sur la paillasse (Figure 21) (pharmacopée Européenne, 2002 ; Lamri et Akhzerouu, 2019)



Fig.21 : Préparation de la première couche

II.5.5 Préparation de la deuxième couche

On liquéfie les milieux gélosés Mueller - Hinton et Sabouraud dans un bain-marie à 95 °C. On les laisse refroidir jusqu'à une température de 45 °C. On remplit ensuite des flacons en verre stérile avec 50 ml du milieu Mueller-Hinton pour les bactéries, et avec 50 ml du milieu Sabouraud pour la levure et le champignon et ce pour chacune des souches. Puis, on inocule dans chaque flacon 200 ul de chacune des suspensions bactériennes (Figure 22) préparées à partir des cultures jeunes tout en assurant une agitation manuelle.



Fig. 22 : Préparation de la 2^{ème} couche

On transvase rapidement chaque contenu des flacons dans les boîtes contenant la première couche de gélose et on étale rapidement la seconde couche (4 ml), tout en pivotant la boîte de Pétri sur elle-même pour avoir une surface uniforme. Enfin, on les laisse solidifier sur la paille (pharmacopée Européenne,2002 ;Lamri et Akhzerou,2019)

La préparation de deuxième couche permet de mieux fixation des germes et pour des résultats plus fiables(Penchev,2010), permet d'être plus sensibles sur les échantillons faiblement contaminés sur lesquels il faut chercher de faibles pollutions ,méthode idéal pour les bactéries se développant en environnement micro-aérophile (pharmacopée Européenne,2002 ;Lamri et Akhzerou,2019)

II.5.6Préparation des extraits

La méthode de diffusion sur disque d'agar a été utilisée pour la détermination de l'activité antimicrobienne (Changwei *et al.*, 2008). Pour cela, des concentrations de 100, de 75 et de 50 mg (Figure 23) de l'extrait ont été dissous dans 1 ml de DMSO (Diméthylsulfoxyde) (Figure 24). Des dilutions sont préparées de façon à obtenir des concentrations de 1/2, /4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 à partir d'une solution mère de 50mg/ml dans le DMSO.



Fig.23 : Préparations des concentrations



Fig.24: Extrait de la plante à 100 mg

II.5.7 Préparation des disques

Une fois les milieux sont solidifiés, on a prélève à l'aide d'une pince stérile des disques stériles de 6 mm de diamètre (**Whatman No.3**) (Figure25) qui ont été imprégnés de 20 ul de chaque concentration de l'extrait et du DMSO présenté par le témoin négatif sont placés sur le milieu de culture préalablement inoculé. Tous les essais ont été répétés trois fois les boites sont fermées et laissées sur la pailleuse pendant 30 minutes pour permettre la diffusion de l'extrait (Figure26). Puis, elles sont incubées pendant 24 h à 37°C pour les bactéries, et à 25°C pendant 48 à 72 h pour les levures. Pour les champignons, on a préparé des essais et des témoins négatifs. L'incubation dure six à sept jours à 25°C (**pharmacopée Européenne, 2002 ; Changwei *et al.*,2008**)

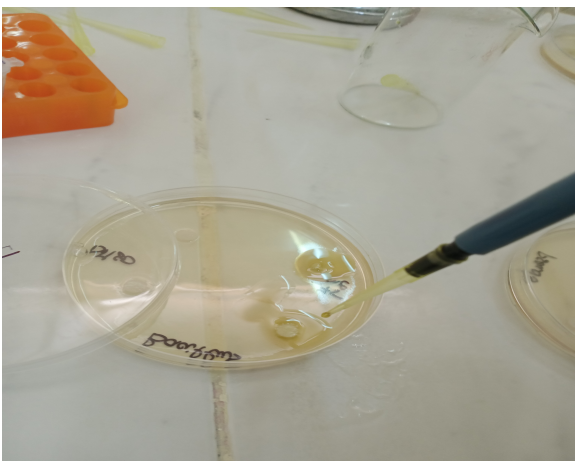


Fig. 25 : Dépôt des extraits à l'aide d'une micropipette



Fig. 26: Les disques stériles

II.5-8. Lecture

La lecture se fait par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse. Le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne a

été symbolisé par des signes selon la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits testés. Suivant le diamètre de la zone d'inhibition exprimé en (mm) autour de chaque disque, la lecture des résultats est faite comme suit selon (**Djabou et al., (2013)**).

- Souche résistante (-), lorsque le diamètre ≤ 8 mm
- Souche modérément sensible (+), lorsque le diamètre est compris entre 8 et 14mm.
- Souche sensible (++) , lorsque le diamètre est compris entre 14 et 20mm.
- Souche extrêmement sensible (+++), lorsque le diamètre > 20 mm.

II.5.9 Analyse statistique

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne obtenus sont exprimés en tant que moyenne \pm d'écart type des trois mesures.

Cette analyse a été effectuée avec le logiciel Microsoft Office Excel 2013.

II.5.10 Technique d'antibiogramme

Technique d'antibiogramme Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. Dans la présente étude 7 antibiotiques sont sélectionnés (Tableau.5).

Tableau 5 : Diamètres critiques des antibiotiques utilisés (**SFM,2013**)

| Antibiotiques | Charge de disque | Diamètre critique | |
|------------------------|------------------|-------------------|------------|
| | | Sensible | Résistants |
| Kanamycine (K) | 30 ug | ≥ 17 | < 15 |
| Acide nalidixique (Na) | 30 ug | ≥ 20 | < 15 |
| Céfazoline (Cz) | 30 ug | ≤ 8 | < 32 |
| Streptomycine(S) | 10 ug | ≥ 15 | < 13 |
| Ciprofloxacine (cip) | 5 ug | ≥ 22 | < 22 |
| Chloramphénicol (c) | 30 ug | ≥ 23 | < 19 |
| Téicoplanine (Tec) | 30 ug | ≥ 4 | > 16 |

Le choix des antibiotiques dans l'antibiogramme est basé sur :

Le spectre d'activité, Absorption et diffusion, Demi-vie sérique, et l'élimination et toxicité
 Le choix de 'ATB étant fait par le praticien ,l'efficacité de l'antibiothérapie qui demeure le but recherché sera obtenue d'abord par le respect de la durée du traitement pour éviter une éventuelle rechute, ensuite par sa surveillance qui doit être la règle pour dépister dans les 72H un échec thérapeutique (**Bergogne et al.,1995**)

II.6 La Concentration Minimale Inhibitrice et la Concentration Minimale Bactéricide

La CMI est définie comme étant la concentration minimale de l'extrait qui inhibe la croissance d'au moins 90 % de la population bactérienne après un temps d'incubation de 18 à 24 heures à 37 °C (**Skandamis et al., 2001**).

La CMB est la plus faible concentration d'un agent antibactérien capable d'entraîner la mort d'au moins 99,99% des bactéries d'un inoculum. (**Skandamis et al.,2001**).

Dans cette partie, on a exposé les résultats concernant la caractérisation phytochimique d'*Anvillea radiata* le test du screening phytochimique par l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits hydro-alcoolique issus de cette plante.

III.1 Screening phytochimique

Les analyses phytochimiques à savoir l'analyse qualitative par réaction de coloration/précipitation (**Annexe 04**) a révélé la présence de certains métabolites secondaires (Tableau 6).

Tableau 6: Résultats du screening phytochimique par réaction de coloration/précipitation

| Composés mis en évidence | <i>Anvillea radiata</i> |
|---------------------------------|-------------------------|
| Alcaloïdes | |
| • Dragendorff | • + |
| Tanins | |
| • Simple | • ++ |
| • Catéchiques | • - |
| • Gallique | • + |
| Flavonoïdes | |
| • Flavones | • ++ |
| • Flavonoides libres | • + |
| • Flavonones | • - |
| • Leucoanthocyane | • + |
| • Catéchols | • +++ |
| • Anthocyanes | • + |
| Stérols et tri terpènes | • +++ |
| Saponines | • + |
| Huiles essentielles | • + |
| Glycosides | • ++ |
| Coumarines | • +++ |
| | • |

+++ : Positive ; ++ : Moyennement positive ; + : Faiblement positive ; - : Négatif

L'analyse qualitative de la poudre de la plante qui a pour but la mise en évidence et la présence de certains types de métabolites secondaires a été faite par des réactions de colorations en tubes à essai. Quant aux alcaloïdes, leur présence est détectée par une réaction de précipitation.

Sur l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que la plante étudiée est plus ou moins riches en métabolites secondaires. Les tests phytochimique réalisés nous ont permis d'avoir une idée générale sur la composition chimique de la plante.

D'après les résultats regroupés dans le (Tableau 6), il s'avère que la poudre de la partie aérienne de l'espèce étudiée est très riche en coumarines, en stérols, en tri terpènes et en catéchols. Cependant, on note une absence totale des Flavonones et des tanins catéchiques, par rapport aux huiles essentielles, aux saponines, aux anthocyanes, aux Leucoanthocyane, aux flavonoïdes libres, et galliques, aux alcaloïdes sont faiblement dévoilés. Alors que, les tanins, les Flavones et les glycosides sont moyennement présentés.

Bouchouka (2016) a étudié le criblage phytochimique d'*Anvillea radiata* des régions de Metlili et Sebseb à Ghardaïa. Il a montré la présence des alcaloïdes et des tanins. Par contre, une absence des saponines a été signalée Ces résultats sont proches aux résultats de la présente étude.

En parallèle, on note la présence de tanins, ce composé qui donne un goût amer à l'écorce aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (**Eberhard et al., 2005**). Les plantes peuvent produire des substances phénoliques en réponse à un stress environnemental, suscité par différents facteurs tels que la défiance en éléments nutritifs, la sécheresse, sur le chauffage (Températures élevées) et l'intensité lumineuse (**Rira, 2006**).

Signale que les conditions environnementales comme le sol, le climat ainsi que la diversité géographique ont une influence sur la quantité et la qualité des substances bioactives des plantes médicinales. Cette différence peut être expliquée aussi par le choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et en qualité d'extrait végétale récupéré.

Il est bien établi que le profil phytochimique des plantes est lié aux conditions de l'environnement telles que le climat, la localisation géographique, la température, la photopériode, le stade végétatif ... etc. Ces facteurs influent sur les voies de synthèse des composés actifs des plantes (**Tsai et al., 2008**).

III.2 Calcul du rendement

Le pourcentage en extrait ethanologique d'*A. Radiata* est calculé par la formule suivante (Bouchouka,2016)

$$R\%=(P/ P_0)*100$$

R(%) : Rendement exprimé en %

P :Poids en gramme de l'extrait sec résultant =1,27 g

P0 : Masse en gramme du matériel végétal à traiter=20 g

Donc le rendement =6,35 %

Bouchouka (2016) trouve que le rendement des extraits d'*A.radiata* de la région de Ghardaïa est de 16,42 %.Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux obtenus lors de la présente étude.

Selon Mohammedi (2013), le rendement varie en fonction des conditions de séchage et de la nature du solvant utilisée.

III.3 Évaluation de l'activité antimicrobienne

III.3.1 Évaluation de l'activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antibactérienne (Tableau 7) in vitro de l'extrait ethanologique d'*Anvillea radiata* sont confiés dans le tableau 6.

Les valeurs sont des moyennes de 3 mesures± écart-type.

Tableau 7 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait ethanologique d'*A.radiata*

| | Diamètres de la zone d'inhibition (Mm ± Et) | | | | |
|--|---|-------------|-------------|------------|------------|
| | Concentrations de l'extrait | | | | |
| Les souches | 100 mg/ml | 75 mg/ml | 50 mg/ml | 25 mg/ml | 12,5 mg/ml |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 | 23 ± 2,82 | 22,5 ± 0,70 | 19,5 ± 0,70 | 13,5± 0,70 | 6mm (NA) |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 | 27,5 ± 3,53 | 24 ± 1,41 | 23,5 ± 2,12 | 21 ± 1,41 | (6mm)NA |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 30 ± 7,071 | 24 ± 1,41 | 23 ± 1,41 | 23 ± 1,41 | (6mm)NA |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 5633 | 23 ± 2,82 | 22 ± 2,82 | 10 ± 14,14 | NA | (6mm)NA |

NA : aucune zone d'inhibition constatés (germe insensible à l'extrait)

Et : Ecart type / Mm : moyenne de 3 mesures

D'après les résultats obtenus, on remarque que les concentrations 100, 75 et 50 mg/ml, de l'extrait sont très actives sur *Staphylococcus aureus* (30 mm). Elles sont moins actives sur *E. coli* (27,5mm) et plus moins actives sur *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa* (23mm)

Pour la concentration 25 mg/ml, l'extrait est actif sur *Staphylococcus aureus* (23mm) , moins active sur *E. coli* (21mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (13,5mm). Par contre, elle est inactive sur *Bacillus subtilis* (6mm)

Pour la concentration 12,5 mg/ml, l'extrait est inactif pour tous les germes testés. (6mm)

La souche *Pseudomonas aeruginosa* se révèle la souche la plus résistante. Ceci est lié à sa grande capacité à développer des résistances à de nombreux agents antimicrobiens. D'où leur implication est fréquente dans les infections hospitalières (**Mann, et al., 2000**). Les résultats de la présente étude sont concordent avec ceux obtenus par de nombreux auteurs qui rapportent la faible sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis à de plusieurs extraits.

Le pouvoir antibactérien est plus ou moins important selon la nature de la souche et le milieu de culture utilisé. L'activité antibactérienne des extraits de plantes dépend d'un certain nombre de facteurs tels que, la période de récolte, les conditions édaphoclimatiques, la méthode d'extraction, la composition chimique, la solubilité dans d'autres solvants organiques, ainsi que les types de microorganismes testés et les conditions de réalisation des tests (**Al-Reza et al., 2010; Obeidat et al., 2012**).

L'activité antibactérienne de l'extrait ethanologique d'*Anvillea radiata* peut être expliquée par la présence dans celles-ci de substances hydrosolubles dotées d'une action inhibitrice sur la croissance bactérienne. En effet, il a été rapporté que la partie aérienne d'*Anvillea radiata* contient divers composés chimiques comme les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les coumarines, les glycosides, les saponines, les stérols et les tanins (**Djellouli et al., 2013**)

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ces constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux (**Mohammedi, 2013**).

En effet, les flavonoïdes jouent un rôle dans la coloration des végétaux (**Ribéreaugayon et Reynaud, 1968**). Aussi, ils possèdent des rôles très importants dans les plantes, dont elles protègent les plantes contre le stress hydrique et génère une tolérance des plantes aux métaux lourds présents dans le sol, hors la plante. Les flavonoïdes possèdent plusieurs effets pharmacologiques (**Makhloufi, 2010**). Les flavonoïdes protègent les aliments d'origine végétale de l'oxydation, ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti radicaire (**Makhloufi, 2010**).

La présence des alcaloïdes peut expliquer des activités biologiques diverses (**Milcent et Chau, 2003**). Ils jouent, à faibles doses, le rôle d'anesthésique locaux, d'analgésique, d'antibiotiques, d'antiparasitaires, d'antipaludique, d'anti-tumoraux et d'amoebicides (**Chenni, 2010**). La plante possède des saponosides qui jouent un rôle important dans les réactions anti-inflammatoires et anti-œdémateuses. Ils sont particulièrement toxiques pour les poissons et autres animaux aquatiques (**Bouhadjera, 2005**). Aussi ces molécules ont des propriétés analgésiques (**Roux et Catier, 2007**).

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement du à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (**Cowan, 1999**). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (**Scalbert, 1991**).

L'extrait à l'éthanol d'*Anvillea garcinii* obtenu par macération a montré une bonne activité contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* les deux des bactéries Gram (-) et l'autre Gram (+) (**Javidnia et al., 2009**). Ces résultats sont en accord avec ceux du présent travail.

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram + par rapport aux gram - (**Falleh et al., 2008**), ceci peut être attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram + et Gram- . Concernant le Gram des bactéries, plusieurs études ont lié la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens à la structure morphologique et à la composition chimique de leurs membranes (**Delaquis et al., 2002**). Or, la résistance de nombreuses bactéries Gram-négatives a été associée à leur membrane externe phospholipidique constituée principalement de 99 polysaccharides. Cette membrane est considérée imperméable, empêchant les inhibiteurs de passer au travers. Par contre, au manque de membrane externe, les bactéries Gram positives seront plus sensibles aux antimicrobiens (**Nostro et al., 2000 ; Hailu et al., 2005**).

L'inactivité des extraits utilisés peut être due aussi à la méthode d'extraction utilisée. En effet, (**Hayouni et al., 2007**) ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer sur l'activité antimicrobienne des composés phénoliques. D'autre part, la charge du disque influe aussi sur l'activité antibactérienne.

L'activité antimicrobienne des composants phytochimiques des extraits peut être exercée par différents modes d'action au niveau cellulaire en raison de leur nature chimique et de leur quantité, à savoir la désintégration de la membrane cytoplasmique, et aussi l'interaction avec les protéines membranaires (ATP ases et autres), la perturbation de la membrane externe des bactéries Gram négatives avec la libération des lipopolysaccharides, la déstabilisation de la force motrice du proton avec une fuite d'ions, et en fin la coagulation du contenu cellulaire et l'inhibition de la synthèse enzymatique (Cox *et al.*, 2001 Burt, 2004 ; Pasqua *et al.*, 2007 ; Hammer *et al.*, 2008; ; Bakkali *et al.*, 2008 ; Amensour *et al.*, 2010 Aleksic et Knezevic, 2014)

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement du à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (Cowan, 1999). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (Scalbert, 1991).

III.3.1.1 La concentration minimale inhibitrice « CMI »

La CMI a été déterminée pour toutes les souches (Tableau 8).

Tableau 8 : La concentration minimale inhibitrice « CMI » de l'extrait ethanologique d'*Anvillea radiata* (cas des souches de référence)

| CMI (mg/ml) | |
|-------------------------------|---|
| Les souches | Extrait aqueux d' <i>Anvillea radiata</i> |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 25 |
| <i>Escherichia coli</i> | 25 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 25 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 50 |

D'après le tableau cité dessus, on a une faible CMI, de l'ordre de 25 mg/ml pour *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. On a aussi une CMI de l'ordre de 50 mg/ml sur *Bacillus subtilis*

Les valeurs la CMI ont montré un large éventail des valeurs de concentrations jusqu'à 50 mg/ml, en comparaison avec les zones d'inhibition (13 mm). Ceux-ci suggèrent que la taille de la zone d'inhibition ne reflète pas la réelle efficacité antibactérienne d'un composé. Il est à noter que les résultats portant sur la CMI effectuée lors de cette étude sont en accord avec les suggestions de (Cimanga *et al.*2008). Tandis que les résultats obtenus par (Tegos *et al.* 2004), montrent que tous les extraits testés sont inactifs

Nos Résultats sont proches de ceux de (Bammou mohamed *et al.*, 2014) qui a trouvé une CMI de 12,5 mg/ml avec *Escherichia coli* ATCC25922, et *Pseudomonas aeruginosa* et une CMI de l'ordre de 50mg/ml avec *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

III.3.2 Réalisation de l'antibiogramme :

La réalisation de l'antibiogramme il ce faut de mettre en évidence le germe vis a vis a plusieurs antibiotiques (Tableau 9)

Tableau 9 : Zone d'inhibition des souches bactériennes sur les antibiotiques

| Control | Zone d'inhibition en (mm) | | | |
|----------------------------|-------------------------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Esc herichia coli</i> | <i>Staphylococcus Aureus</i> | <i>Bacillus subtilis</i> |
| Kanamycine (+K) | 10 (R) | 15 (I) | (6mm)(R) | 13 (I) |
| Acide nalidixique (+Na) | 10 (R) | 20 (I) | (6mm) (R) | (R) |
| Céfazoline (+Cz) | (6mm) (R) | 25 (S) | (6mm) (R) | 16 (I) |
| Streptomycine (+S) | 16 (S) | 17 (I) | (6mm) (R) | (R) (6mm) |
| Ciprofloxacine (+Cip) | 30 (S) | 29 (S) | (6mm) (R) | (6mm) (R) |
| Chloramphénicol (+C) | 18 (R) | 23 (S) | (6mm) (R) | (6mm) (R) |
| Téicoplanine (+Tec) | (6mm) (R) | (6mm) (R) | 29 (S) | (6mm) (R) |
| Diméthylsulfoxyde (- DMSO) | 00 | 00 | 00 | 00 |

Antibiotiques contrôle positif

DMSO contrôle négative

(S) : sensible (R) : Résistante (I) : Intermédiaire

Selon les diamètres critiques des antibiotiques (SFM, 2013), on remarque que la souche *Staphylococcus aureus* testée présente une résistance à la kanamycine (6mm), à la streptomycine (6mm), au Céfazoline (6mm), à l'acide nalidixique(6mm), au Ciprofloxacine (6mm), au chloramphénicol (6mm) et sensible pour le téicoplanine (29mm).

Pseudomonas aeruginosa a manifesté une résistance vis-à-vis à tous les antibiotiques testés sauf deux sensibilités pour le ciprofloxacine (30 mm) et Streptomycine (16 mm).

E. coli présente une sensibilité résistance pour céfazoline (25 mm), chloramphénicol (23 mm), ciprofloxacine (29 mm) et une résistance pour le téicoplanine (6 mm). Elle est moyennement sensible pour kanamycine (15mm), streptomycine (17 mm) et l'acide nalidixique (20 mm).

La souche *Bacillus subtilis* est résistante pour les antibiotiques streptomycine (6mm), chloramphénicol (6 mm), acide nalidixique (6 mm),ciprofloxacine (6 mm) et le téicoplanine (6 mm). Par contre, elle est légèrement sensible pour kanamycine (13 mm) et céfazoline (16 mm).

III.3.3 Évaluation de l'activité antifongique

Les résultats d'évaluation de l'activité antifongique de nos échantillons sont consignés dans le **tableau10**, Les valeurs sont des moyennes de 3 mesures± écart-type.

Tableau 10 : L'activité antifongique de l'extrait éthanolique d'*A. radiata* testé sur les souches de référence

La lecture des résultats a été effectuée après cinq jours d'incubation à 25°C par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition.

| Les souches | Concentration mg/ml | Extrait éthanolique | Diamètres des zones d'inhibition (mm) | DMSO |
|--|---------------------|---------------------|---------------------------------------|------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763 | 100 | 25/25 /25 | 25 ± 0 | 0 |
| | 75 | 20/25/23 | 22,66 ± 2,51 | 0 |
| | 50 | 17/17/17 | 17 ± 0 | 0 |
| | 25 | 13/10/12 | 11,66 ± 1,52 | 0 |
| | 12,5 | 12/11/11 | 11,33 ± 0,57 | 0 |
| | 6,25 | 10/11/10 | 10,33 ± 0,57 | 0 |
| | 3,12 | – | – | 0 |
| <i>Condida albican</i> ATCC 10231 | 100 | 23/25/23 | 23,66 ± 1,15 | 0 |
| | 75 | 20/17/19 | 18,66 ± 1,52 | 0 |
| | 50 | 20/16/16 | 17,33 ± 2,03 | 0 |
| | 25 | 15/15/15 | 15 ± 0 | 0 |
| | 12,5 | 11/11/12 | 11,33 ± 0,57 | 0 |
| | 6,25 | 11/11/10 | 10,66 ± 0,57 | 0 |
| | 3,12 | 8/10/8 | 8,66 ± 1,15 | 0 |

(±) plus ou moins(-) N'est pas active

D'après les résultats, on remarque que l'extrait est très actif pour la concentration 100 mg/ml avec une moyenne de 25 %(25mm). Ainsi, elle diminue avec la diminution de la concentration de l'extrait. En outre, on peut noter à 75 mg/ml la moyenne est de 22,66 % (20 mm), à 50 mg/ml la moyenne est de 17% (17mm). Ect

Les modes d'action antifongiques des composés phénoliques sont assez semblables à ceux décrits pour les bactéries, concernant les dommages irréversibles de la membrane cellulaire et la coagulation du contenu cellulaire. De plus, il existe des phénomènes supplémentaires qui

sont importants lorsqu'il s'agit de l'activité contre les levures. Le premier est l'établissement d'un gradient de pH à travers la membrane cytoplasmique et le second est le blocage de la production d'énergie des levures qui entraîne une perturbation de la membrane cellulaire **(Djilani et Dicko, 2012)**

Les extraits de plantes ont exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis des souches testées. Les diamètres, la vitesse et l'indice antifongique de la croissance du mycélium diminuent à chaque fois qu'on augmente la concentration de chaque extrait jusqu'à la non germination du disque au CMI déterminée. Cela est confirmé par les travaux de **(Mehani et ses collaborateurs 2014)**.

Le pouvoir antifongique des extraits étudiés pourrait être attribué à la présence des composants qui possèdent une activité antifongique provoquant des dommages membranaires sévères et une perte d'homéostasie d'où elle entraîne à l'inhibition totale ou la mort cellulaire. Le pouvoir antifongique des constituants majoritaires des extraits testés a été validé par de nombreux chercheurs **(Dorman ,2006 ;Morcia et al.,2012)**

De la même manière, plusieurs auteures ont signalé que les souches qui présentaient de grandes zones d'inhibitions par la méthode de diffusion ne sont pas toujours les plus sensibles, soit les valeurs de la CMI ont été plus faibles car la taille de la zone d'inhibition ne reflète pas l'efficacité antifongique du produit testé. Elle peut être affectée par la solubilité et l'évaporation de l'extrait **(Cimanga et al., 2002, Hernandez et al.,2005)**

III.3.3.1 La concentration minimale inhibitrice « CMI »

La détermination des paramètres d'inhibition CMI nous permet non seulement de confirmer, quantifier et comparer les activités, mais aussi de caractériser la nature de l'effet révélé par un extrait sur un micro-organisme donné, les résultats sont présents dans le (Tableau 11)

La CMI a été déterminée pour toutes les souches.

Tableau 11 : La concentration minimale inhibitrice « CMI » de l'extrait éthanolique d'*Anvillea radiata* (cas des souches de référence)

| CMI (mg/ml) | |
|---|--|
| Souches | Extrait éthanolique d' <i>Anvillea radiata</i> |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763 | 6,25 |
| <i>Condida albican</i> ATCC 10231 | 3,12 |

D'après nos résultats une faible CMI, de l'ordre de 3,12 mg/ml avec *candida albican* ATCC 10231, et une CMI de l'ordre 6,25 mg/ml avec *Saccharomyces cerevisiae*.
Aucun travail n'a touché à l'étude de la CMI après le traitement de champignons par l'extrait éthanolique d'*Anvillea Radiata*.

Conclusion :

Cette étude s'inscrit dans le cadre de mémoire de fin d'étude, dont l'un des objectifs majeurs est la recherche de nouveaux principes actifs de plantes médicinales afin de valoriser la médecine traditionnelle et de remédier à la résistance des bactéries aux antibiotiques.

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et biologique de la plante médicinale *Anvillea radiata* de la famille d'Asteraceae

Dans un premier temps, on a procédé à l'extraction des polyphénols par Soxhlet dans un solvant organique (éthanol), suivant le procédé d'extraction solide-liquide. La détermination du rendement en extrait ethanologique a montré que le rendement d'extraction est de 6,35%

L'ensemble des résultats du screening phytochimique réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de caractériser la présence des différentes familles de composés tels que les flavonoïdes, les saponosides, les tanins, les stérols, et les stéroïdes, en quantités variables dans la partie aérienne de la plante. Ces composés sont à la base de l'utilisation thérapeutique traditionnelle des plantes

Dans la seconde partie de cette étude, une évaluation des activités antibactérienne et antifongique des extraits ethanologique a été réalisée.

L'évaluation de l'effet antifongique de l'extrait testé montre une sensibilité vis-à-vis des souches testés soit *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albican*. avec des moyennes variables selon la concentration de l'extrait ajouté située entre (25 % et 10,33%) pour *Saccharomyces cerevisiae* et de (23,66 et 8,66%) pour *Candida albican*. Donc, l'effet antifongique est proportionnel à la concentration de l'extrait.

L'activité antifongique est réalisée à partir de l'extrait testé sur *Saccharomyces cerevisiae* et de *Candida albican*. Ce test a montré un résultat fructueux sur les souches.

Par ailleurs, l'étude de l'activité antibactérienne sur les différentes souches pathogènes à savoir *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Bacillus subtilis* a montré que l'extrait ethanologique de la plante possède une bonne activité antimicrobienne.

La moyenne des diamètres de la zone d'inhibition pour ces bactéries est de $23 \pm 2,82$; $27,5 \pm 3,53$; $30 \pm 7,071$ et $(23 \pm 2,82)$ respectivement.

On remarque que d'après ces résultats *Staphylococcus aureus* est la plus sensible à l'extrait. Elle est suivie par *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* En se basant sur

Conclusion :

Les résultats obtenus lors de cette étude, on note que l'extrait ethanologique d'*Anvillea radiata* possède de bonnes activités biologiques. Cette analyse trouve une importante application dans l'industrie pharmaceutique comme elle peut trouver aussi une application dans l'industrie alimentaire.

Les références bibliographiques

A

Albercio.,F. (2010). De la conception du médicament à son développement : l'indispensable chimie In : Bach, J-F., Blanchard-Desce, M., Couvreur,P., Darel, F. La chimie et la santé, au service de l'homme. EDP Sciences, , pp 77-90

Aleksic ;V., Knezevic ;P. (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological research*, 169(4): 240-254

Amensour ;M., Bouhdid ;S., Fernández-López ;J., Idaomar;M., Senhaji ;S., Abrini ;J. (2010). Antibacterial activity of extracts of *Myrtus communis* against food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Properties*, 13(6): 1215-1224

Anderberg ;A. (1982).The genus *Anvillea* (compositae) . *Nordic Journal of Botant* 2 : p 297-305

Aworet Samseny ;R.(2003).Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au Gabon : le *Strychnos Icaja* Baillon (Mbundu), Loganiacée. Thèse, Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie Et D'Odonto - Stomatologie, Mali.

B

Baltz ;R ;H.(2008) Renaissance in antibacterial discovery from actinomycetes *Current Opinion in Pharmacology*, , vol 8, n° 5, pp 557-563

Barnoud ;D.,Fontaine ,E.,Schnebel,C . Leverve,X. (2002).Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique .*Réanimation*,11 : P 411-120

Bellakhder ;J.(1997) .La pharmacopée marocaine traditionnelle medecine arabe ancienne et savoir populaire. Paris-Rabat, Ibis Press. Eds Le Fennec, p 764

Bakkali ;F., Avertebeck S., Avertebeck D., Idaomar M. (2008) Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475

Belion C, Valle J, Latour-Lam- Bert P, Faure P, Kzreminski M, Balesrino D, Haagenen JA, Molin S, Prensier G, Arbelle B, Ghigo JM (2004) .Global impact of mature biofilm lifestyle on *Escherichia coli* K-12 gene expression. *Mol. Microbiol.*, 51, 659-674

Benbrook ; P.D et Charles M.(2005) .Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologique. Rapport sur l'état des connaissances scientifique .organic center : P 84

Bonnier. (1934).Flore complète de France, Suisse et Belgique. Edition 10, P 118

Bouchouka ;E.(2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse, faculté des sciences, département de chimie, Université Badji Mokhtar –Annaba.

Bouhadjera ;K.(2005). Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L, Thèse de doctorat, université de Telemcene

Bammou m ;Sellam K.EL Rhaffari L.Echchagadda G.Ibijbijen J.Nassiri L.(2014) .Activité antibactérienne(in vitro) de l'extrait aqueux des feuilles d'*Anvillea radiata* (Coss EtDur).sur des bactéries multi résistantes à des antibiotiques :Science Lib Editions Mersenne :Volume 6, N°140503 ISSN 2111-4706

Boullard ;B. (2001) . Plantes médicinales du monde .Croyances et réalités

Bruneton;J. (1999). Pharmognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier, p 1120.

Bruneton ;J.(2009) .Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème ed. Paris: Tec § Doc Lavoisier.

Burt ;S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods -a review. *International journal of food microbiology*, 94(3): 223-253.

C

Corcoran ;O., Spraul, M. LC-NMR-MS.(2003). in drug discovery *Drug Discovery Today*, vol 8, n° 14, pp 624-631

Costerton ;JW, Stewrt ; PS, Greenberg ;EP .(1999). Bacterial bio- films: a common cause of persistent infections. *Science*, 284, 1318-1322.

Cowan ;M,M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents.*Clinical Microbiology Reviews*. 12(4), 564-582

Cox ;S. D., Mann ;C.M, Markham ;J,L. (2001). Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3): 492-497.

Courvalin, P., H. Drugeon, J.P. Flandrois, and F. Goldstein, *Bactericide, Aspects théoriques et thérapeutiques*. 1990: p. 110.

Crete ;P. (1965) .Précis de botanique .Masson , Paris ,édition 2, P 429

Changwei, A.O., L. Anping, A.E. Abdelnaser, D.X. Tran, T. Shinkichi, 2008. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of *Ficus microcarpa* L. fil.extract. *Food Control*, 19:940–948.

Chenni ;M. (2010).: Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinales :Bryonia Dioica Jacq ,Thèse de Magister , Université d'Oran es-Senia , Oran . Algérie .138 P

Cos, P., Vlietinck, A., Vanden Berghe, D. and Maes, L., (2006). Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro "proof-of-concept". J. Ethnopharmacol. 106, 290-302.

D

Davies ;DG, Marques CNH.(2009) A fatty acid messenger is responsible for inducing dispersion in microbial biofilms. J Bactriole (2009), vol 19; p. 1393–1403.

Deysson G.(1964). Organisation et classification des plantes vasculaire .SEDES Paris 2 : P 434

Dev ;Dutt.(2008) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International centre for science and high technology, Trieste, 21-25

DH Saoud, A. Jelassi, MB Hila, MB Goudjil, S. Ladjel, H.Ben Jannet, (2019). Activités biologiques des extraits et métabolites isolés de Anvillea radiata Coss. & Dur. (Asteracées). Journal sud-africain de botanique (page d'accueil Journal: www.elsevier.com/locate/sajb) page (387-388)

Djabou N., Lorenzi V., Guinoiseau E., Andreani S., Giuliani MC., Desjobert JM., Bolla JM., Costa J.,Berti L., Luciani A., Muselli A., 2013. Phytochemical composition of Corsican Teucrium essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxiinfectious pathogens. Food Control. 30: 354-363

Di Pasqua R., Betts G., Hoskins N., Edwards M., Ercolini D., Mauriello G. (2007). Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. Journal of agricultural and food chemistry, 55(12), 4863-4870.

Djellouli M, M. Moussaoui ;H. Benmehdi ;L. Ziane, A. Belabbes .(2013). Ethnopharmacological study and Phytochemical Screening of Three Plants (Asterasea Family) From the Region of South West Algeria. Asian J. Nat. & Appl Sci., 2: 159-165.

Djilani A., Dicko A. (2012). The therapeutic benefits of essential oils. In Nutrition, WellBeing and Health. Dr. Jaouad Bouayed (Ed.), ISBN: 978-953-51-0125-3, InTech

DONLAN RM, COSTERTON JW (2002) Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin. Microbiol. Rev., 15, 167-193

Dorman, H. and S. Deans, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of applied microbiology, 2000. 88(2): p. 308-316.

E

El Hassani ;B., El Hanbali ;F., Akssira,M.,Mellouki ,F.,Haidour,A ., Barrero, A.F.,(2004). Germacranolides from *Anvillea Radiata*, *Fitoterapia* 75,573

Eberhad ;T., Robert ;A., Annelise ;L.(2005). : Plantes aromatiques, 2pice aromates, condiments et huiles essentielles . Ed. Tec et Doc, Paris. France.521 p

F

Fawzia ;BEDDOU.(2015). étude phytochimiques et activité biologique de deux plante sahariennes *Anvillea radiata* et *remux vesicarus* L, thèse doctorat, université Abou bker belkaid, page

Fakchich ;J.et Elachouri ;M. (2014). .Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in oriental Morocco to manage various aliments .J. Ethnopharmacol.154.76-87

Fattouch ; S,Caboni P., Corenev., Tuberness C., Angioni A., Dessi S., Marzouki N., and Cabras P., 2007. Antimicrobial activity of Tunisian quince (*Cydonia Oblongamiller*) pulp and peel phenolic extracts. *j. Agric. Food Chem.*, 55: 963-969

Falleh H. ;R.Ksouri, K. Chaieb ,N. Karry-Bouraou i, N. Trabelsi,M.Boulaaba and C.Abdelly.(2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities . *compt. Rend. Biol. Vol. 331. Pp. 372-379*

J

Jacques ;Freudentin et Jean-Claude ;Hayon. (2007).les plantes qui nous soignent traditions et thérapeutique, Edition ouest-France page 08-15

Jean-Yves Chabrier. (2010).Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Sciences pharmaceutiques. Thèse doctorat. Université de LORRAINE, Page 8.

Javidnia K., Miri R. , Assadollahi M. , Gholami M. and M. Ghaderi M. (2009). Screening of selected plants growing in Iran for antimicrobial activity.*Iranian Journal of Science and Technology Transaction a-Science*, Vol 33 : 329-333

H

Hopking ;w. g. (2002). Botanique Systématique. Américaine par Jules Bouharmon et Charles-Marie Evrard, page 84-87

Handelsman ;J., Rondon ;M. RR. Brady, S. F., Clard ; J., Goodman ;R. M.(1998). Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes a new frontier for natural products. *Chemistry & biology*, vol 5, n° 11, pp R245-R249

Hammiche V and Maiza K (2006). Traditional medicine in Central Sahara : Pharmacopoeia of Tassilli N'ajjer . *Journal of Ethnopharmacology* ; 105 : p 358-367

Haddouchi F, Chaouche TM, Ksouri R,(2014). Phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of aqueous-extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chin J Nat Med* 12(6): 415–22

Haddouchi F, Chaouche TM, Zaouali Y. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria. *Food Chem* 141(1): 253–8

Hayouni E.A., Houix M, et Hamdi M.,(2007).the effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro.

Hammer K. A., Carson C. F., Dunstan J. A., Hale J., Lehmann H., Robinson C. J., Prescott S.L., Riley T.V. (2008). Antimicrobial and anti-inflammatory activity of five *Taxandria fragrans* oils in vitro. *Microbiology and immunology*, 52(11): 522-530.

(infusion) Handa Sukhdev Swami, Khanuja Suman Preet Singh, Longo Gennaro, Rakesh

I

Isbell, J., Xu, R., Cai, Z., Kassel, D. B (2002). Realities of high-throughput liquid chromatography mass spectrometry purification of large combinatorial libraries : a report on overall sample throughput using parallel purification *Journal of combinatorial chemistry*, vol 4, n° 6, pp 600-611

Ilboudo S., Ouedraogo M., Some N., et Guissou PI., (2009). Criblage phytochimique et évaluation de la toxicité aigüe de *Pisolithus tinctorius* (Basidiomycète). *Journal des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques*. 10(2):6-13

G

Graham, L. P., Depovere, P. Chimie pharmaceutique Ed De Boeck.(2002). P 154. Guinoiseau, E., Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. 2010. Thèse de Doctorat, Université de Corse.

Ghourri M., Zidane L., et Douira A.(2013).Usage des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Sahara marocain (Tan-Tan) *J.Anim.Plant Sci.*, 17,2388-2411

Goodman al, kulasekara B, Rietsch A, Boyd D, Smith RS, Lory S .(2004). A signaling network reciprocally regulates genes associated with acute infection and chronic persistence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Dev. Cell*, 7, 45-754.

K

Kandouli Chouaib.(2018). Etude des propriétés antidiabétiques, antioxydantes et antiinflammatoires des extraits hydrosolubles d'*Anvillea radiata* Coss. & Dur. sur le diabète de type 2 expérimental induit par le régime (high fat) chez la souris C57/BL6J. Thèse doctorat. Université Des Frères Mentouri Constantine page 45.

Koehn, F. E., Carter, G. T.,(2005). The evolving role of natural products in drug discovery. Nature Reviews Drug Discovery, , vol 4, n° 3, pp 206-220

Kingston, D . G. I. Modern natural products drug discovery and its relevance to biodiversity conservation Journal of Natural Product, 2011, vol 74, n° 3, pp 496-511

Kohen, R. and A. Nyska, Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods of their quantification. Toxicol Pathol, 2002. 30 (6): 620-50

L

Lalam Malika,Ouhamou Ouarda.(2018). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de cinq plantes médicinales de différentes régions de l'Algérie. Mémoire de Fin de Cycle. Université A. MIRA - Bejaia. page 13

Lewis K (2005) Persister cells and the riddle of biofilm survival. Biochemistry (Mosc), 70, 267-274.

Luque de Castro M ;D et Garcia ;Ayuso L.E. (1998). Soxhlet extraction of solide materials : An outdated technique with a promising innovative future. Analytica Chimica Acta, 369,110

Landini P, Antoniani D, Burgess JG, Nijland R. Molecular mechanisms of compounds affecting bacterial biofilm formation and dispersal. Appl Microbial Biotechnology. , (2010), vol 86, p.813–823.

M

M. BOUKHOBZA ;Mohamed. (2014). Extraction et analyse des métabolites secondaires de Solanum elaeagnifolium. Recherche d'activité biologique. Thèse doctorat .université de la science et de la technologie Mohammed boudiaf –oran , page 13

Mocali, S., Benedetti, A.(2010). Exploring research frontiers in microbiologie the challenge of metagenomics in soil microbiology Research in Microbiology, vol 161, n° 6, pp 497-505

Macheix J J., Fleuriet A. et Jay–Allemand C.(2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4-5.

M.C.Chalandre, (1999-2000). Elements de botanique UFR de Pharmacie et Ingénieure de la santé –Angers

Mebarki, L., H.M. Kaid, L. Benlarbi, A. Rahmani and A. Sarhani .(2013). Phytochemical Analysis and Antifungal Activity of Anvillea radiata. World App. Sci. J., 26: 165-17

Madhavi, D., S. Deshpande, and D.K. Salunkhe, Food antioxidants: Technological: Toxicological and health perspectives. 1995: CRC Press

McCullough ;MJ, Ross BC, Reade PC. (1996). Candida albicans: a review of its history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes, and methods of strain differentiation. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. ; 25 (2) : 136-44

Mohammedi .(2013). : Etude phytochimique et Activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et sud Ouest de l'Algérie, Thèse de doctorat en Biologie . Université Abou bker Belkaid, Tlemcen .Algérie ,169 p

Makhloufi.(2010). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf). Et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre, Thèse de doctorat d'état en biologie, université aboubaker belkaid ,Tlemcen.Algérie .136 P

Milcent R., Chau F.(2003) : Chimie Organique hétérocyclique : Structure fondamentale, Chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed Francois chau EDP. Paris .France, 846P.

Mehani ;M., N. Salhi, T.(2014). Valeria, and S. Ladjel, Antibacterial and Antifungal Activity of Essential Oil of *Eucalyptus camendulensis* on a Few Bacteria and Fungi. Int J Biol Biomol Agr Food Biotech Eng.08(08): p. 916-919.

Morcia, C., M. Malnati, and V. Terzi .(2012).In vitro antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1,8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess., 29(3): p. 415-22.

N

Nemlin, J., Brunel, J. E.(1995). Fascicule de Travaux Pratiques de Matière Médicale (3e année). Université Nationale de Côte-d'Ivoire. Faculté de Pharmacie. Département de Pharmacognosie. Laboratoire de Phytologie, 47 p

O

Ozenda ;P.,(1958).Flore du sahara septentrional et central. Edit .CNRS, paris. p 468

Quezel ;P et Santa, S.(1963).Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .Centre National De La Recherche Scientifique ., paris, Tome II .p 1170
P 949

Okunade .A. (2002). *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) .Fitoterapia ;73 : p 1-16

Ozenda,P ., (1977). Flore du Sahara septentrional et central. 2nd Edn., Paris : P 434

Oueld El Hadj M .Didi,Hadj-Mohammed M ., Zabeiro H.(2003).Places des plantes spontanées Dans la Médecine Traditionnelle de la région de Ouargla, Courrier du Savoir , N° 03, PP. 47-51

P

Paul.,Iserin.(2001).Larousse encyclopédie des plantes médicinales identifications , préparations, et soins .Edition Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition) Copyright © 1996, 2001 Dorling Kindersley Limited, Londres Text copyright © 1996, 2001 Andrew Chevallier

Peyron L., Richard Hubert. (1992). L'extraction des épices et herbes aromatiques et les différents types d'extraits. Epices et aromates. Tec et Doc Lavoisier, APRIA., Paris

Penchev P.(2010).Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basse et haute pressions , Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse

Q

Quetin-Leclercq ;J.(2002).Le voyage insolite de la plante au médicament. Journal de pharmacie de Belgique, 2002, vol 57, HS 2, pp 11-20

R

Roux et Jean-Marc GHIGO,(2006)Les biofilms bactériens , Groupe de Génétique des Biofilms, Institut Pasteur (CNRS URA 2172), 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris CEDEX 15, France.E-mail:jmghigo@pasteur.fr

Read.,D ; B., Bengough A. G. et Gregory P ;J.(2003). Plant roots release Phospholipid surfactants that modify the physical and chemical properties of soil, New Phytologist, Février, Vol 157, No 2,pp 3115-326.

REN D, BEDZYK LA, THOMAS SM, YE RW, WOOD TK (2004) Gene expression in Escherichia coli biofilms. Appl. Microbiol. Biotechnol., 64, 515-524

Ribéreau-Gayon., J et Peynaude,(1968) : Les composés phénoliques des végétaux .Ed : Edition Dunod,paris. France ,254 p .

Rira ;M.(2006) :Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins , Thèse de magister en biochimie et microbiologie appliquées , Université Mentouri Constantine , Algérie 94 P .

Roux D et Catier O .(2007). : Botanique , pharmacognosie ,phytothérapie 3eme edition . Ed Wolters Kluwer, Dalian . China 141 p

S

Saoud Née hamada ;Djamila.(2016). Etude Structure Activité des Principes Actifs de la Plante Anvillea radiata Asteraceae, thèse doctorat. Université de kasdi merbah ourgala

Shapiro, M. J ., Gounarides, J. S. NMR (1999) methods utilized in combinatorial chemistry research. Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscop, vol 35, n° 2, pp 153-200

Schembri Ma, kjaergaard K, Klemm P (2003) Global gene expression in Escherichia coli biofilms. Mol. Microbiol., 48, 253-267

Singh PK, Schaefer Al, Parsek MR, Moninger , Welsh MJ, Greenberg EP (2000) Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lungs are infected with bacterial biofilms. Nature, 407, 762-764.

Sacchetti, G., S. Maietti, M. Muzzoli, M. Scaglianti, S. Manfredini, M. Radice, and R. Bruni,(2005).Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food chemistry, . 91(4): p. 621-632

Souza, E.L., N.B. Guerr, T.L.M. Stamford, and E. de Oliveira Lima, Spices.(2006).alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. Rev. Bras. Farm, 87(1): p. 22-25

Scalbert ;A (1991). Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30, 3875-3883

S.S. Herodez ;M. Hadolinb, M;Skergeta and Zeljko ;Knez,(2003).Solvent extraction study of antioxidants from Balm (Melissa officinalis L.) leaves, Food Chemistry, 80 ,275– 282

V

Verpoorte ;R., Choi, Y. H, Kim, H. K. NMR .(2007).based metabolomics at work in phytochemistry. Phytochemistry Reviews, vol 6, n° 3, pp 3-14

W

Wieck S, Olsson O, Kümmerer K, Klaschka U.(2018). Fragrance allergens in household detergents, Regul Toxicol Pharmacol., , Pages 163-169

Y

Yang L, Liu Y, Wu H, et al. Combating biofilms.(2012). FEMS Immunol Med Microbiol ; vol 65;p. 146–157.

Z

Zarnowski.,R et Suzuki.,Y.(2004). Expedient Soxhlet extraction of resorcinolic lipids from wheat grains.Journal of Food Composition and Analysis ,17,649-664

Site web :

<https://www.crstra.dz/plantes/anvillea-radiata.php>

<http://www.pasteur.fr/recherche/unites/Ggb>, page 1

Annexe 01 : Réactifs et appareillages (Matériel non biologique)

| Matériel | Réactifs et les produits chimiques | Milieux de culture | Appareillages |
|--|--|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> · Cellule de Mallassez. · Tube à essai à vis. · Pipettes Pasteur. · Pipettes graduées. · Flacon. · Bêchers. · Entonnoir. · Eprouvette. · Erlenmeyers. · Cristalliseur. · Anse à boucle. · Spatules. · Micropipette · Ecouvillons. · Boîtes de Pétri simple et cloisonnées. · Portoirs. · Bec Bunsen. · Papier filtre. · Barreau magnétique. · Cuves. · Godets. · Embouts. | <ul style="list-style-type: none"> · Hexane · Acétone -Dichlorométhane · Ethanol · NH₄OH DMSO (diméthylsulfoxyde) Acétate de sodium -Acide chlorhydrique -Acide sulfurique -Alcool éthylique -Alcool Isoamylique -Ammoniaque concentrée -Chloroforme -Chlorure de fer -Copeau de magnésium -Eau distillée -Eau physiologique (NaCl à 0,9°C) -Hydroxyde de potassium -Propanol . | <ul style="list-style-type: none"> -Muller Hinton -Gélose Nutritive -OGA -Sabouraud | <ul style="list-style-type: none"> · Spectrophotomètre · Un agitateur magnétique · Une balance de précision · Une étuve · Autoclave · Réfrigérateur · Four pasteur · Bain marie · Plaque chauffante . |

Annexe 02 : Description des bactéries

| Les bactéries | Description |
|-----------------------|---|
| E.coli | <p>Ce genre comprend 5 espèces, mais E.coli est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents.</p> <p>E.coli, un hôte commun de l'intestin de l'homme (10⁸ / g de selles), et des animaux; elle est recherchée à ce titre, comme germe témoin de contamination fécale, dans l'eau et les aliments. A l'intérieure de l'espèce il y a des pathotypes souvent associés à des sérotypes particuliers. Certains de ces pathotypes sont responsables d'infections intestinales (gastroentérites et diarrhées), leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines.</p> <p>E.coli entéropathogène (diarrhées infantiles), E.coli entérotoxigène (turista), E.coli entéroinvasif (invasion des cellules intestinales), E.coli entérohémorragique (diarrhées sanglantes), E. coli entéroadhérent (diarrhée du voyageur).</p> <p>D'autres responsables de méningites néonatales, provoquent des infections du tractus urinaire, ou encore des septicémies qui correspondent à un nombre restreint de sérotypes</p> <p>(Leclerc et al., 1995 ;ZardiBerguaoui,2006).</p> <p>Classification :</p> <p>Règne: Bacteria.</p> <p>Embranchement : Proteobactéria.</p> <p>Classe : Gamma Proteobacteria.</p> <p>Ordre : Enterobacteriales.</p> <p>Famille : Enterobacteriaceae.</p> <p>Genre : Escherichia.</p> <p>Espèce : Escherichia Coli.</p> |
| Staphylococcus aureus | <p>Les espèces staphylococcus aureus sont des cocci à Gram positif ,de forme sphérique ,avec undiamètre de 0,8 à 1 mm . Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas . Ce type de bactéries sont immobiles ,sporulés habituellement sans capsule. De nombreuses souches de staphylococcus aureus produisent un pigment jaune doré (Patrick et al.,1998) .Staphylococcus aureus représente la cause de méningite , ostéomyélite et la di Règne : Bacteria</p> |

| | |
|--------------------------|--|
| | <p>Embranchement : Firmicutes</p> <p>Classe : Bacilles</p> <p>Ordre : <i>Bacillales</i></p> <p>Famille : <i>Staphylococcaceae</i></p> <p>Genre : <i>Staphylococcus</i></p> <p>Espèce : <i>Staphylococcus Aureus</i></p> <p>arrhée (Steven et al., 2004)</p> |
| Pseudomonas aeruginosa | <p>P.aeruginosa (ou bacille pyocyanique) est une bactérie à Gram négatif , aérobie stricte dépourvue de capsule . Comme la plupart des espèces appartenant au genre Pseudomonas , P.aeruginosa n'exige aucun facteur de croissance . C'est une bactérie hautement versatile dotée d'une grande adaptabilité nutritionnelle et métabolique .Par addition d'inhibiteur ,tel que le cétrimide .Elle est strictement aérobie et sa température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C .</p> <p>Les cultures de P.aeruginosa dégagent une odeur caractéristique , et produisent le plus souvent des pigments de pyocyanine et de pyoverdine .</p> <p>Classification</p> <p>Règne : Bacteria</p> <p>Embranchement : Proteobacteria</p> <p>Classe : Gammaproteobacteria</p> <p>Ordre : Pseudomonadales</p> <p>Famille : Pseudomonas</p> <p>Genre : Pseudomonas</p> <p>Espèce : Pseudomonas aeruginosa</p> |
| <i>Bacillus subtilis</i> | <p>Classification</p> <p>Règne : <i>Bacteria</i></p> <p>Embranchement : <i>Firmicutes</i></p> |

| | |
|-------------------------------|--|
| | <p>Classe : <i>Bacilli</i></p> <p>Ordre : <i>Bacillales</i></p> <p>Famille : <i>Bacillaceae</i></p> <p>Genre : <i>Bacillus</i></p> <p>Espèce : <i>Bacillus subtilis</i></p> <p>Description :</p> <p><i>B. subtilis</i> est une bactérie sous forme de bacille, catalase positive que l'on trouve habituellement dans le sol. C'est une bactérie Gram+ et qui possède une respiration aérobie stricte.</p> <p>Dans sa niche écologique, elle doit souvent faire face à des stress et des carences en nutriments, ce qui l'a conduite à développer diverses stratégies afin de survivre longtemps dans des conditions extrêmes telles que la dessiccation, la chaleur ou les radiations.</p> <p><i>B. subtilis</i> n'est pas considéré comme pathogène pour l'Homme, mais elle peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer une intoxication alimentaire (MARCHADIER, 2009).</p> |
| <p><i>Condida albican</i></p> | <p><i>C. albicans</i> est un ascomycète appartenant à la classe des Deuteromycetes. Le genre <i>Candida</i> contient de nombreuses espèces, mais la particularité morphologique de celle-ci est de pouvoir se présenter sous différents aspects, en fonction des conditions de culture : levure, hyphes ou pseudohyphes Elle est associée à la plupart des animaux à sang chaud (Mc Cullough .,et al 1996)</p> <p>Classification</p> <p>Règne : <i>Champignons</i></p> <p>Embranchement : <i>Ascomycota</i></p> <p>Classe : <i>Saccharomycetes</i></p> |

Ordre : *Saccharomycetales*

Famille : *saccharomycetaceae*

Genre : *Candida*

Espèce : *C. albicans*

Description :

C'est une levure ovale bourgeonnante qui produit des pseudomycéliums en culture. Normalement présente sur la peau, dans la bouche et dans l'intestin, elle peut devenir pathogène suite à un changement d'environnement et attaque le tube digestif et la vessie. La dissémination hématogène peut entraîner des lésions des reins, des poumons et du foie (**LARPENT et LARPENT, 1988**).

Annexe 3 : Composition des milieux de culture

| Milieu de culture | Composition |
|-----------------------------|--|
| Gélose Muller Hinton | <ul style="list-style-type: none">• 300ml d'infusé de bœuf• 17.5g peptone de caséine• 17g agar (1 litre pour 38g du mélange) <ul style="list-style-type: none">• pH 7.4 (Soduim Igor, 2002) |
| Gélose Sabouraud | <ul style="list-style-type: none">• 10g peptone• 10g glucose• 15g agar• 10.5g chloramphénicol• Eau distillée 1 litre• pH 6.2 (Soduim Igor, 2002) |

Annexe 4 : Préparation des solutions pour le screening chimique :

1-Acide Chlorhydrique 1 N :

Prélever 8,33 ml d'acide chlorhydrique et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

2-Acide Chlorhydrique 0,1 N :

Prélever 0,833 ml d'acide chlorhydrique et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

3-Acide Chlorhydrique 2 N :

Prélever 16,66 ml d'acide chlorhydrique et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

4-Acide Chlorhydrique à 10 % :

Prélever 10 ml d'acide chlorhydrique et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

5-Acide Sulfurique 2 N :

Prélever 5,6 ml d'acide sulfurique et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

6-Ammoniaque ½ :

Prélever 30 ml d'ammoniaque, puis rajouter 30 ml d'eau distillée

7-Réactif de Drangendroff :

Solution :

Dissoudre 0,85 g de nitrate de bismuth dans 40 ml d'eau distillée+10 mld'acide acétique

Solution b :

Dissoudre 8g d'iodure de potassium dans 20 ml d'acide acétique puis compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

8-Chlorure de Fer à 5% :

Dissoudre 05g de chlorure de fer dans 100 ml d'eau distillée

9-Ether/ chloroforme(3/1) :

Mélanger 03 volumes d'éther avec 01 volume de chloroforme

10-Hydroxyde de potassium à 10% :

Dissoudre 10g d'hydroxyde de potassium dans 100 ml d'eau distillée

11-Hydroxyde de sodium à 0,1 N :

Dissoudre 04 g d'hydroxyde de sodium dans 100 ml d'eau distillée 0,1 N (bien agiter dans l'agitateur)

12-Propanol/Acide Chlorhydrique :

Mélanger 01 volume de propanol avec 1 volume d'acide chlorhydrique

13-Ractif de stiasny :

Mélanger 02 volumes de formol avec 1 volume d'acide chlorhydrique 1N

14-Réactif de Wagner :

Dissoudre 2 g d'iode et 6 g d'iodure de potassium dans 100 ml d'eau distillée.