



République Algérienne Démocratique Et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ ABBES LAGHROUR –KHENCHELA-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

MEMOIRE

Présenté Pour l'obtention du Diplôme de

MASTER

FILIERE : Biologie Moléculaire et Cellulaire

OPTION : **Microbiologie**

Thème

*Etude de l'activité antimicrobienne des extraits
de la phase éther de pétrole des plantes
Spartium junceum et *Onopordum acanthium**

Présenté par

BOUZEKRI Amel
REMADNIA Meriem

Encadré par

Mr. BOUAZZA Lyas

Soutenu le : 13-Juin -2015

Jury de soutenance

Président : Mr BENDJAMAA Abdallah MAA Université Abbes Laghrou –Khenchela

Rapporteur : Mr BOUAZZA Lyas MCB Université Abbes Laghrou –Khenchela

Examineur : Melle LEULMI Nassima MAA Université Abbes Laghrou –Khenchela

Promotion : Juin -2015

Laboratoire où le travail a été réalisé : laboratoire de l'université Abbes Laghrou-Khenchela-

Table de matière

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	iii
Liste des abréviations.....	iv
Résumé	
Introduction générale	
Première partie : Etude bibliographique	
<i>Chapitre I : Métabolites secondaires des végétaux</i>	
I. Introduction.....	1
II. Les métabolites primaires.....	1
III. Les métabolites secondaires.....	1
3. Rôle des métabolites secondaires.....	2
3.2. Les différentes classes des métabolites secondaires.....	3
IV. Les polyphénols.....	3
4.1. Biosynthèse des polyphénols.....	4
V. Les flavonoïdes.....	5
5.1. Biosynthèse des flavonoïdes.....	5
5.2. Structure chimique et classification.....	5
5.3. Distribution et localisation.....	7
VI. Les tannins.....	7
6.1. Localisation et distribution.....	7
6.2. Classification.....	8
VIII. Les alcaloïdes.....	9
8.1. Activité biologique des alcaloïdes.....	9
IX. Terpènes.....	10
9.1. Classification.....	10
9.2. Les sesquiterpènes.....	12
9.3. Les triterpénoïdes.....	12
<i>Chapitre II : Activité antimicrobienne des polyphénols</i>	
I. Utilisation des plantes médicinales.....	13
II. Emplois thérapeutique des polyphénols.....	13
2.1. Emplois thérapeutiques des flavonoïdes.....	13

2.1.1. Propriétés immunologiques des flavonoïdes.....	15
2.2. Emplois thérapeutiques des tannins.....	16
2.2.1. Activité thérapeutique due à l'astringence.....	16
III. Activité antimicrobienne des polyphénols.....	16
3.1. Bases biochimiques de l'activité antimicrobienne.....	16
3.2. Mécanismes des effets antimicrobiens des polyphénols.....	17
3.3. Mécanismes antibactériens de divers flavonoïdes.....	18
3.3.1. L'inhibition de la synthèse d'acide nucléique.....	18
3.3.2. L'inhibition de la fonction de la membrane cytoplasmique.....	18
3.3.3. L'inhibition de métabolisme de l'énergie.....	19
3.4. Activité antimicrobienne des flavonoïdes.....	21
3.5. Activité antimicrobienne des tannins.....	23
3.6. Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	25
3.6.1. Activité antimicrobienne de sesquiterpene lactone.....	27
IV. Places des plantes médicinales dans la lutte contre les résistances aux antibiotiques	28
Chapitre III : Généralités sur les plantes utilisées	
1. <i>Onopordum acanthium</i> L.....	29
1.1. Classification.....	29
1.2. Description.....	29
1.3. Ecologie et biologie.....	31
1.4. Utilisations.....	31
2. <i>Spartium junceum</i> L.....	32
2.1. Classification.....	32
2.2. Description.....	33
2.3. Les composants chimiques.....	33
2.4. Usages et activités biologiques.....	35
Deuxième partie : Etude expérimentale	
Chapitre I : Matériels et méthodes	
I. Matériel végétal.....	36
1.1. Echantillonnage.....	36
1.2. Préparation des extraits des deux plantes.....	36
1.2.1. Méthode d'extraction de la phase éther de pétrole.....	36
1.2.2. Préparation des dilutions des extraits pour le test de sensibilité.....	37

II. Matériel de laboratoire.....	38
2.1. Produits chimiques.....	38
2.2. Souches microbiennes utilisées.....	38
III. Méthodes.....	39
3.1. Méthodes de diffusion en milieu gélosé.....	39
3.1.1. Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	39
3.1.1.1. Préparation de l'inoculum.....	39
3.1.1.2. Ensemencement et dépôt des disques.....	40
3.1.1.3. Incubation des boîtes de Pétri.....	41
3.1.2. Mise en évidence de l'activité antifongique.....	41
3.1.3. Lecture des résultats.....	41
3.2. Technique de milieu liquide (méthode de dilution).....	41
3.2.1. La dilution en bouillon.....	42
3.2.3. Détermination des CMI et CMB.....	42
3.3. Analyse statistique.....	44
Chapitre II : Résultats et discussion	
2.1. Résultats du test préliminaire.....	45
2.2. Effet de l'extrait d' <i>Onopordum acanthium</i>	45
2.2.1. Tests de sensibilité.....	45
2.2.2. Effet dose de l'extrait d' <i>Onopordum acanthium</i>	47
2.3. Effet de l'extrait de <i>Spartium junceum</i>	47
2.3.1. Test de sensibilité.....	47
2.3.2. Effet dose de l'extrait de <i>Spartium junceum</i>	49
2.4. Activité antifongique.....	50
2.5. Détermination des paramètres antibactériens (CMI et CMB).....	50
2.5.1. Extrait de <i>Spartium junceum</i>	50
2.5.2. Extrait d' <i>Onopordum acanthium</i>	51
Conclusion.....	53
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des figures

Figure 1 : Un noyau phényle + un acide propénoïque constitue un carrefour métabolique Intermédiaire entre le métabolisme I et II	4
Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes.....	6
Figure 3 : Structures des majeures classes des flavonoïdes.....	6
Figure 4 : Les éléments des tanins.....	7
Figure 5 : Classification des tanins.....	8
Figure 6 : Structure de quelques alcaloïdes d'intérêts.....	10
Figure 7 : Exemples de structures terpéniques.....	11
Figure 8 : Origine des terpénoïdes.....	11
Figure 9 : Effets biologiques des polyphénols.....	15
Figure 10 : Mode d'action des antibiotiques (a: réplication de l'ADN, b: transcription de l'ADN, c : traduction de l'ARNm).....	17
Figure 11 : Chélation des métaux par les flavonols.....	17
Figure 12 : Structure d'artémisinine et ses analogues.....	27
Figure 13 : Semis aux cotylédons et deux vraies feuilles étape(a), (b) rosette et(c) plante à fleurs.....	30
Figure 14 : Fleur d' <i>Onopordum acanthium</i> L.....	30
Figure 15 : Mature fausse acanthe.....	31
Figure 16 : <i>Spartium junceum</i> L.....	33
Figure 17 : <i>Spartium junceum</i> L. dans la saison de floraison.....	33
Figure 18 : Genet envahissant prairies naturelles.....	34
Figure 19 : Protocole de l'extraction de la phase éther de pétrole.....	37
Figure 20 : Préparation des dilutions des extraits pour la méthode de diffusion en milieu gélosé.....	38
Figure 21 : Ensemencement par écouvillon.....	40
Figure 22 : Préparation des dilutions pour la détermination de la CMI.....	42
Figure 23 : Protocole de la recherche de CMI et CMB.....	43
Figure 24 : Témoin de croissance et de stérilité réalisé dans la détermination de la CMI... ..	44
Figure 25 : Effet du DMSO sur les bactéries et les champignons étudiés.....	45
Figure 26 : Zones d'inhibition d'extrait appartenant à la plante <i>Onopordum acanthium</i>	46
Figure 27 : Zones d'inhibition d'extrait appartenant à la plante <i>Spartium junceum</i>	48
Figure 28 : Absence d'activité antifongique des extraits.....	50

Figure 29 : Détermination de la CMB..... 52

Liste des tableaux

Tableau 1 : Modes d'actions antimicrobiennes de quelques polyphénols.....	18
Tableau 2 : Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne.....	20
Tableau 3 : Activité antibactérienne de l'extrait de la plante <i>Onopordum acanthium</i> (méthode de diffusion sur gélose), exprimée en diamètre d'inhibition (mm).....	46
Tableau 4 : Effet dose de l'extrait de la phase éther de pétrole de la plante <i>Onopordum acanthium</i> (méthode de diffusion sur gélose), exprimée en diamètre d'inhibition (mm) (Moyenne \pm écart type).....	47
Tableau 5 : Activité antibactérienne de l'extrait de la plante <i>Spartium junceum</i>	49
Tableau 6 : Effet dose de l'extrait de la phase éther de pétrole de la plante <i>Spartium junceum</i> (méthode de diffusion sur gélose), exprimée en diamètre d'inhibition (mm) (Moyenne \pm écart type).....	49
Tableau 7 : Détermination de la CMI de l'extrait appartenant à la plante <i>Spartium junceum</i>	50
Tableau 8 : Détermination de la CMB de l'extrait appartenant à la plante <i>Spartium junceum</i>	51
Tableau 9 : Interprétation des résultats de CMI et CMB de l'extrait de <i>Spartium junceum</i>	51
Tableau10 : Détermination de la CMI de l'extrait appartenant à la plante <i>Onopordum acanthium</i>	51
Tableau11 : Détermination de CMB de l'extrait appartenant à la plante <i>Onopordum acanthium</i>	52

Liste des abréviations

ADN: Acide déoxyribonucléique

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

ARN: Acide ribonucléique

ATP: Adénosine triphosphate

CMB: Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO : Diméthyle Sulfoxide

E. coli : *Escherichia Coli*

EGCG: Epigallocatechine gallate

FLU-A : virus d'influenza A

FPP: le pyrophosphate de farnésyle

H. pylori: *Helicobacter pylori*

HES : Huiles Essentielles

HSV-1, HSV-2 : Herpes Simplex virus type 1 et 2

NADH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide

NADPH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

P. falciparum: *Plasmodium falciparum* agent du paludisme.

PAL: La phénylalanine ammonia-lyase (enzyme)

PBP: Penicillin Binding Protein

PIV: Virus Para Influenza

PTK: Protéine Tyrosine Kinase

ROS : Reactive Oxygen Species -Espèces Réactives Oxygénées

RSV : Virus Respiratoire Syncytial

SAR: La Relation Structure-Activité

SARM : *Staphylococcus aureus* méticilline résistants

TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α

UV : Ultra Violet

VIH: Le virus de l'immunodéficience humaine (SIDA)

Résumé

Les échecs thérapeutiques et les coûts de plus en plus élevés des traitements des infections dues aux bactéries résistantes appellent à trouver d'autres alternatives de soins. La présente étude est initiée dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait éther pétrole des tiges et des feuilles de *Spartium junceum* et *Onopordum acanthium* sur des souches résistantes de références. Les méthodes de la diffusion en milieu gélosé et en milieu liquide sont utilisées pour le test de sensibilité et la détermination de la CMI et de la CMB. Les différents tests ont été effectués sur cinq souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* sauvage, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* résistante, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella ssp*) et deux champignons en l'occurrence *Aspergillus niger* et *Fusarium oxydans*.

La sensibilité des souches utilisées à l'extrait des tiges de *Spartium junceum* a donné un résultat supérieur significativement ($p < 0.05$) à la Streptomycine, utilisée comme antibiotique.

Les concentrations minimales inhibitrices et la concentration minimale bactéricide de l'extrait des tiges de *Spartium junceum* est de 40mg/ml. La plus faible valeur de CMI et de CMB est observée chez *Staphylococcus aureus* sauvage, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* résistante et *Pseudomonas aeruginosa* tandis que la plus grande valeur de ces mêmes paramètres a été obtenue sur *Salmonella ssp*. Mis à part *Salmonella ssp* cet extrait a exercé une activité bactéricide sur toutes les souches utilisées.

Quant aux résultats obtenus avec l'extrait d'*Onopordum acanthium* sont moins prononcés et mériteraient des investigations plus poussées.

Ceci pourrait justifier l'utilisation de l'extrait éther pétrole de *Spartium junceum* dans le traitement de diverses infections.

Mots clés: *Spartium junceum*, *Onopordum acanthium*, activité antibactérienne, l'extrait éther pétrole.

Introduction générale

L'utilisation des plantes, à des fins thérapeutiques, est rapportée dans les littératures antiques arabe, chinoise, égyptienne, hindou, grecque et romaine. En Afrique, le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres et nos parents de façon empirique. **(N'guessan *et al.*, 2009).**

Outre leur rôle dans l'équilibre de l'écosystème, les végétaux offrent à l'homme des ressources naturelles indispensables pour sa survie et son développement. Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances. La médecine traditionnelle soulage plus de 70 % des populations du tiers-monde et 80 % des populations africaines selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et Jiofack *et al.*, (2010) **(Diatta *et al.*, 2013).**

La médecine traditionnelle apporte ses propres solutions pour le traitement des infections bactériennes, fongiques, pour le traitement du paludisme, des infections opportunistes contractées par les personnes vivant avec le VIH/SIDA, du diabète, de l'hypertension artérielle et de la drépanocytose. Une recherche scientifique sur les plantes médicinales s'avère donc nécessaire pour améliorer les recettes des tradipraticiens en vue de la production de médicaments traditionnels améliorés, standardisés et à coûts accessibles à un plus grand nombre de la population **(Agban *et al.*, 2013).**

Actuellement, plusieurs questions se sont soulevées concernant la sécurité et l'efficacité des produits chimiques utilisés en médecine. En effet, durant les 20 dernières années, il a été prouvé que l'efficacité des antibiotiques a fortement diminué. Les bactéries en sont devenues de plus en plus résistantes. Face aux limites thérapeutiques, des antibiotiques classiques ont poussé les scientifiques à orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout l'utilisation des principes actifs des plantes (composées phénoliques, alcaloïdes, huiles essentielles...) comme agent antibactérien.

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne, Saharienne et une flore Paléo Tropicale, estimé à plus de 3000 espèces appartiennent à plusieurs familles botaniques, dont 15% endémiques. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable (**Kheyar *et al.*, 2014**).

Pour compléter ces études, notre travail a pour objectif d'évaluer les propriétés antimicrobiennes des extraits éther pétrole des tiges de la fabacée *Spartium junceum* et de feuilles de l'astéracée *Onopordum acanthium* sur la croissance *in-vitro* des souches bactériennes de référence.

Chapitre I : Métabolites secondaires des végétaux

I. Introduction

A l'origine, la nature constituée d'êtres végétaux, servait d'alimentation aux animaux et aux hommes peuplant la terre. Mais à côté de cette fonction nutritionnelle, l'homme découvrit bien d'autres fonctions que pouvaient lui procurer les plantes, notamment le pouvoir de guérison (**Boudjellal, 2009**).

La définition des plantes médicinales selon la Pharmacopée Européenne précise que les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou servir à la préparation de boissons hygiéniques.

Etymologiquement, phytothérapie vient de deux mots grecs : phyton (plante) et therapeuein (soigner). La phytothérapie consiste donc à soigner avec les plantes. Ces plantes peuvent être utilisées fraîches ou volontairement séchées (**Vaudreuil, 2012**).

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse (**Belloum, 2007**).

II. Les métabolites primaires

Ce sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule, de l'organisme:

- ◆ les glucides, source d'énergie, paroi cellulaire,
- ◆ les lipides, source d'énergie, membranes cellulaires,
- ◆ les acides aminés, source primaire de construction des protéines (**Dehak, 2013**).

III. Les métabolites secondaires

On désigne par « **métabolite secondaire** » toute substance présente chez un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante. Ce concept est historiquement attribué à Kossel (1891) qui l'introduisit par opposition à celui de métabolites primaires, ces derniers étant directement impliqués dans les grandes voies du métabolisme

basal de la cellule. Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes. Outre la très grande diversité chimique qu'ils représentent, ces métabolites secondaires se caractérisent généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie) ainsi que par leur stockage souvent réalisé dans des cellules ou organes dédiés (**Bourgaud, 2013**).

Pour ce qui concerne leurs fonctions chez les plantes, les métabolites secondaires exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc.). Sur le plan agronomique, le rôle de ces composés dans la protection des cultures est connu (résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes, à certains insectes), mais a été relativement peu exploité pour ce qui concerne le développement de variétés résistantes.

Ces métabolites secondaires constituent, aujourd'hui, un des leviers d'une possible intensification écologique de l'agriculture, en substituant notamment l'usage d'intrants chimiques par des mécanismes de défense naturelle des plantes. D'un point de vue pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques présents chez les végétaux et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une telle substance végétale. Cette efficacité pharmacologique des métabolites secondaires s'est traduite par le développement de médicaments majeurs sur les 30 dernières années, tel que le Taxotère® (Sanofi-Aventis), ou la Vinorelbine® (Pierre Fabre Médicaments) utilisés dans le traitement de certains cancers (**Bourgaud, 2013**).

3.1. Rôle des métabolites secondaires

Leurs rôles sont multiples:

- Ils ont une action anti-herbivore (menthe par exemple).
- Ils inhibent les attaques des bactéries et des champignons.
- Ils interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins).
- Ils peuvent être antinutritifs.
- Beaucoup de métabolites secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole (**Belloum, 2007**).

3.2. Les différentes classes de métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en différents groupes:

- ❖ **les composés phénoliques:** avec un groupe hydroxyle sur un cycle aromatique. Ils interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). On a, par exemple, la lignine, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes et les anthocyanes et les tanins.
- ❖ **les composés azotés:** Ils comprennent les alcaloïdes et les glycosides (qui larguent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abîmées). Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On a, par exemple, la nicotine, l'atropine, la codéine et la lupinine.
 - les terpènes
 - les poly-isoprènes (**Belloum, 2007**).

IV. Les Polyphénols

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considérés.

Ces composés regroupent une multitude de molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal. Comme définition, nous pouvons dire que les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (**Akroum, 2011**).

En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (**Boudjouref, 2011**). L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycoside...). Les composés phénoliques sont commodément classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (**Yakhlef, 2010**).

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines. Les polyphénols sont présents

dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boudjouref, 2011).

4.1. Biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques :

- Celle de l'acide shikimique
- Celle issue de l'acétate

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (Harrar, 2012).

D'un point de vue biosynthétique, la majeure partie des composés aromatiques est constituée de la famille des phenylpropanoïdes, qui dérivent de la phénylalanine. La désamination de cet acide aminé par une enzyme clé – la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), conduit à l'acide cinnamique (Gravot, 2009).

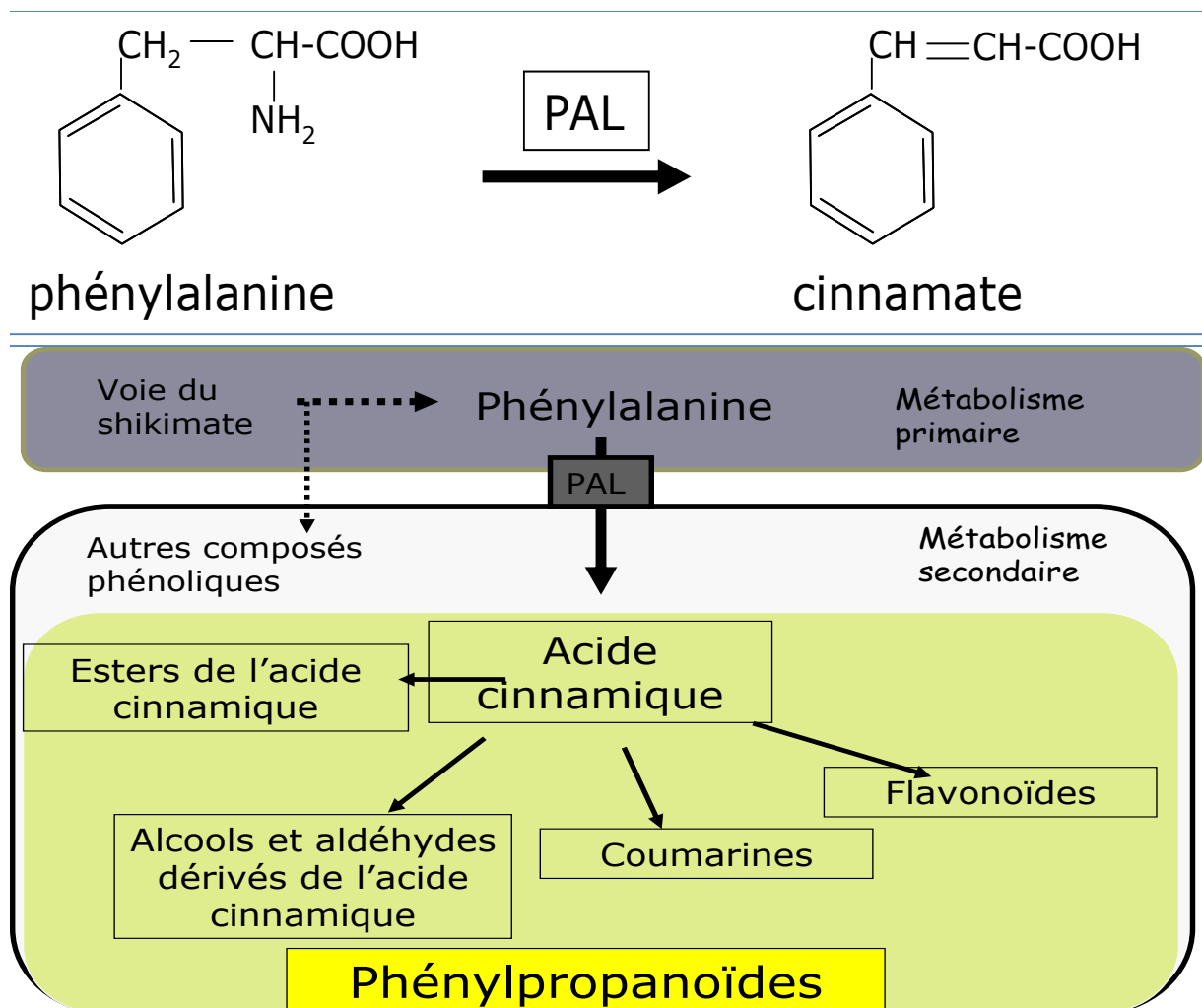


Figure 1 : un noyau phényl + un acide propénoïque constitue un carrefour métabolique intermédiaire entre le métabolisme primaire et métabolisme secondaire (Gravot, 2009).

V. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles à l'état naturel, les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Kebieche, 2009**).

L'appellation "**flavonoïdes** " rassemble une très large gamme de composés polyphénoliques. Ce terme est dû à leur couleur jaune (=flavus, en latin). D'ailleurs leurs fonctions principales chez les végétaux semblent être attribuées à leur coloration (au delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaines). Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois... certains sont plus spécifiques de certains tissus, ex : les chalcones se trouvent plus fréquemment dans les pétales de fleurs (**Akroum, 2006**).

La fonction écologique de ces pigments est plus évidente: responsable de la coloration de nombreuses fleurs et de certains fruits mais aussi "guide à nectar", motifs visibles par les seuls insectes en UV- ils attirent et guident les pollinisateurs favorisant ainsi la reproduction de l'espèce (**Belloum, 2007**).

5.1. Biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont synthétisés au niveau du chloroplaste et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons. Certains quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles (**Kebieche, 2009**).

5.2. Structure chimique et classification

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés et isolés à partir des milliers des espèces végétales et possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones (**Boudjellal, 2009**), (C6-C3-C6) constitué de deux noyaux aromatiques (ou anneaux), que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C (**Yakhlef, 2010**).

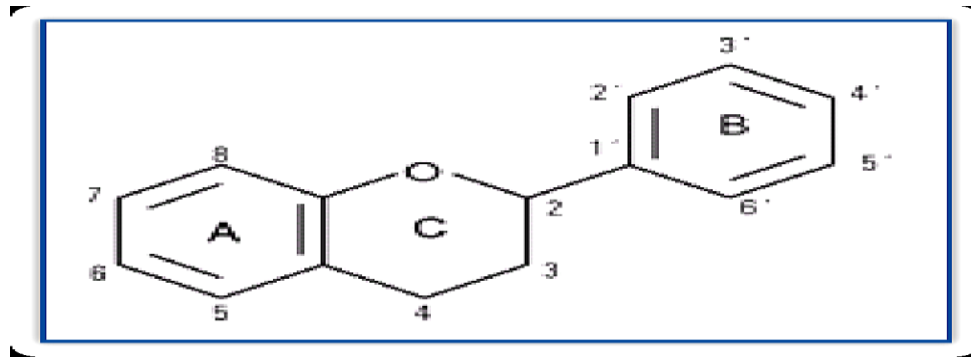


Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes (Yakhlef, 2010).

Selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, ils peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont :

- Flavones,
- Flavonols,
- Flavanones,
- Dihydroflavonols, Isoflavones,
- Isoflavon,
- Flavanes,
- Flavanols et anthocyanines.

De plus, le noyau pyranique central peut être ouvert (chalcones) et recyclisé en un noyau furanique (aurones) (Boudjellal, 2009).

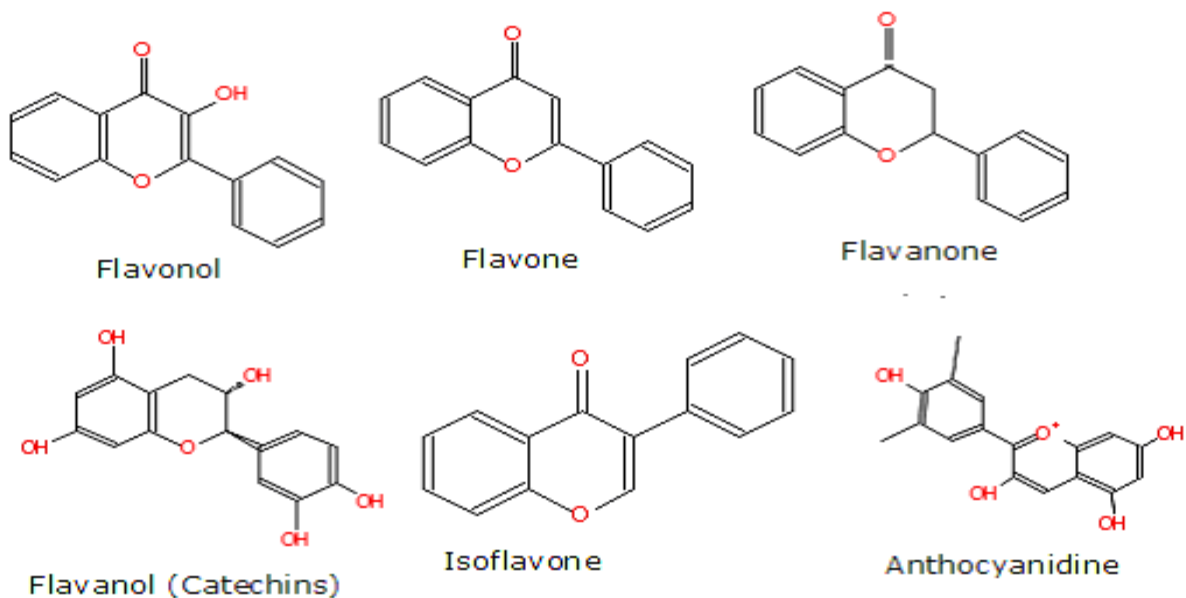


Figure 3: Structures des majeures classes de Flavonoïde (Parul *et al.*, 2007).

5.3. Distribution et localisation

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal, ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs. Par contre, ils sont rencontrés en abondance dans les familles suivantes : Polygonacées, Apiécées, Rutacées, **Astéracées** et **Légumineuses** (Boudjellal, 2009).

VI. Les tanins

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé (Muanda, 2010). Les tannins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes (tannins condensés) et les dicotylédones (tannins hydrolysables) (Akroum, 2006). Ces composés, solubles dans l'eau, se caractérisent par leur faculté à se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables. Ce sont des molécules assez volumineuses avec un poids moléculaire généralement compris entre 500 et 3000 Da (Rira, 2006). Dans ce processus, les molécules de tannins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes (Akroum, 2006).

Les tanins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments (Muanda, 2010).

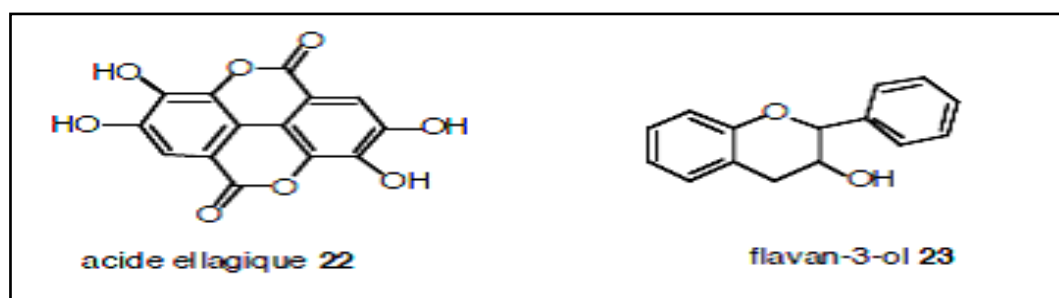


Figure 4 : Des éléments des tanins (Krief, 2004).

6.1. Localisation et distribution

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les Conifères, les Fagacées, les Rosacées. Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (Rira, 2006).

6.2. Classification

Du point de vue structural, les tanins constituent un groupe chimique hétérogène, avec des structures moléculaires variées. En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (Rira, 2006).

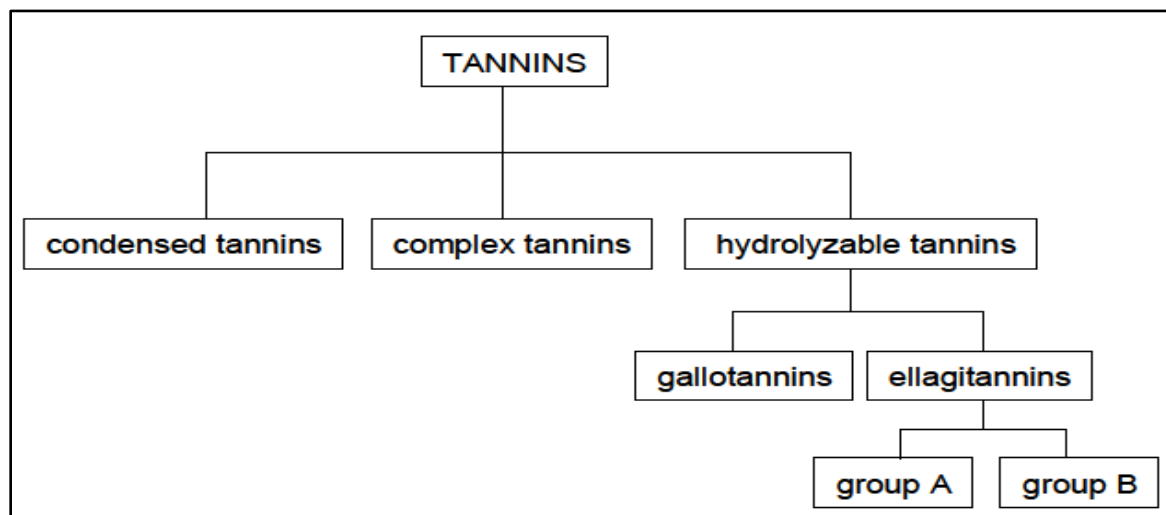


Figure 5 : Classification des tanins (Boudjouref, 2011).

- **Les tanins hydrolysables**

Ce sont formés par liaison de plusieurs acides galliques à un carbohydrate (généralement le glucose). On parle de gallotannins. Aussi des unités galloyles peuvent être ajoutées par liaisons esters, généralement en position C3 de l'acide gallique. Et les unités d'acide gallique voisines s'accouplent formant les esters d'acide hexa hydroxydiphénique, dits : ellagitannins (Akroum, 2006).

Comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques. Quelques auteurs définissent deux classes supplémentaires de tanins hydrolysables : les taragotanins (l'acide gallique et l'acide quinique comme noyau) et les caffétanins (intégrant l'acide caféique et l'acide quinique) (Rira, 2006).

- **Les tanins condensés**

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, les tanins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevées. Ils résultent de la polymérisation autooxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi pro

anthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A. (Muanda, 2010).

VIII. Les alcaloïdes

L'alcaloïde est une molécule qui provient des végétaux. On dénombre plus de 1000 variétés d'alcaloïdes. Les alcaloïdes sont efficaces contre les douleurs, le paludisme et contre le cancer. Cependant, on peut aussi les trouver dans des drogues, comme la cocaïne, ou dans certains poisons, comme la strychnine. On trouve aussi des alcaloïdes dans le thé ou le café (Hordé, 2014).

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce de la plante, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles ou dans les fruits. Dans la pomme de terre, les tubercules comestibles ne contiennent pas d'alcaloïdes, tandis que les parties vertes contiennent la solanine toxique. La partie dans laquelle les alcaloïdes s'accumulent n'est pas forcément celle où ils sont synthétisés. Dans le tabac par exemple, la nicotine est produite dans les racines mais transférée ensuite vers les feuilles où elle est stockée (Mauro, 2006).

8.1. Activités biologiques des alcaloïdes

D'une manière générale, les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques très variées ainsi que par leur toxicité. Ils agissent en tant que :

- Dépresseurs au niveau du système nerveux central (morphine, scopolamine)
- Stimulants (caféine, strychnine)
- Anesthésiques locaux (cocaïne)
- Ganglioplégiques (spartéine, nicotine)
- Parasymphomimétique (physostigmine ou éserine, pilocarpine) (Mekkiou, 2005).
- Anticancéreux (la vincristine et le taxol),
- Ils agissent au cœur de phénomènes d'interactions de défense face aux pressions biotiques (herbivores, microorganismes) (Dehak, 2013).

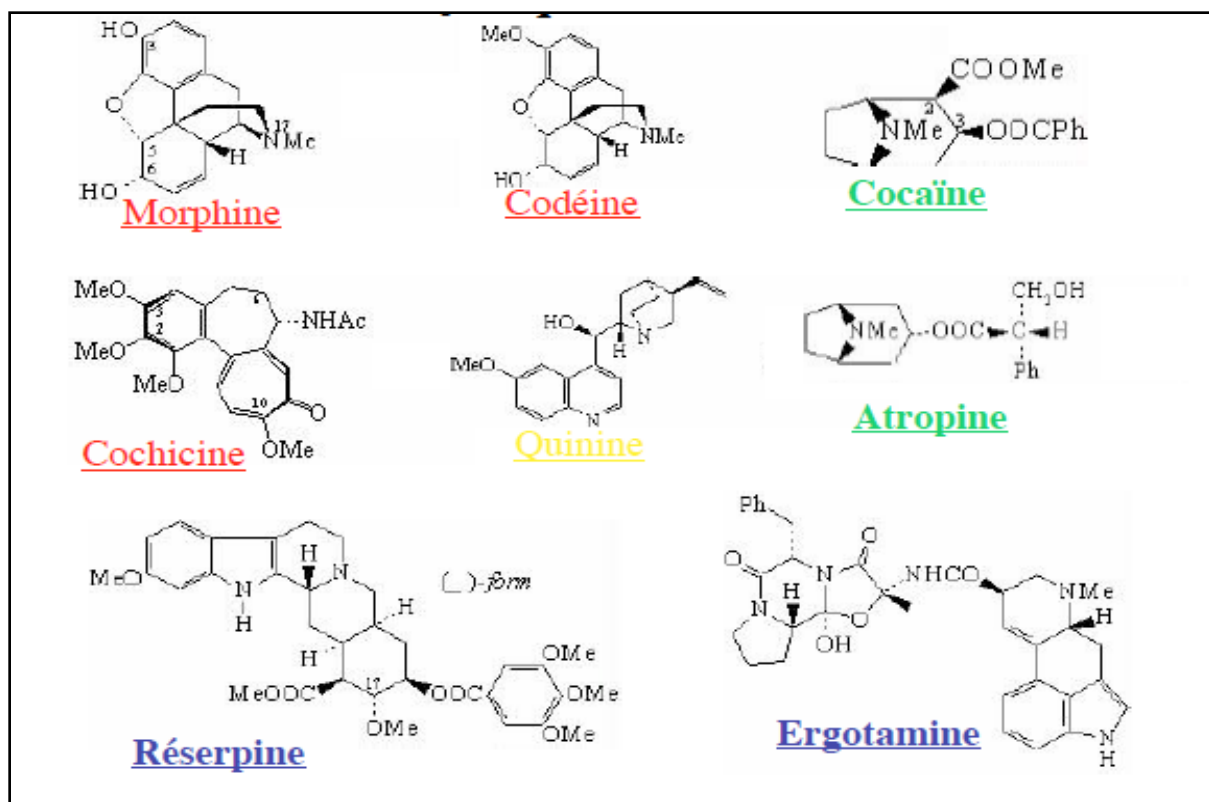


Figure 6 : Structure de quelques alcaloïdes d'intérêts (Jay-Allemand, 2011).

IX. Terpène

Les terpènes constituent le plus grand ensemble des métabolites secondaires, notamment les plantes supérieures. Ils sont également rencontrés dans les autres types d'organismes vivants (algues, mousses, champignons, insectes).

Tout terpène est construit par un assemblage d'un nombre variable d'unités isopréniques C_5H_8 (2-méthylbuta-1,3 diène), les différentes classes de molécules terpéniques sont nommées selon le nombre de motifs isoprènes constituant leur squelette (Dehak, 2013).

9.1. Classification

- Les monoterpènes qui comptent deux unités isoprènes (10 atomes de C).
- Les sesquiterpènes avec 3 unités isoprènes (15 atomes de C).

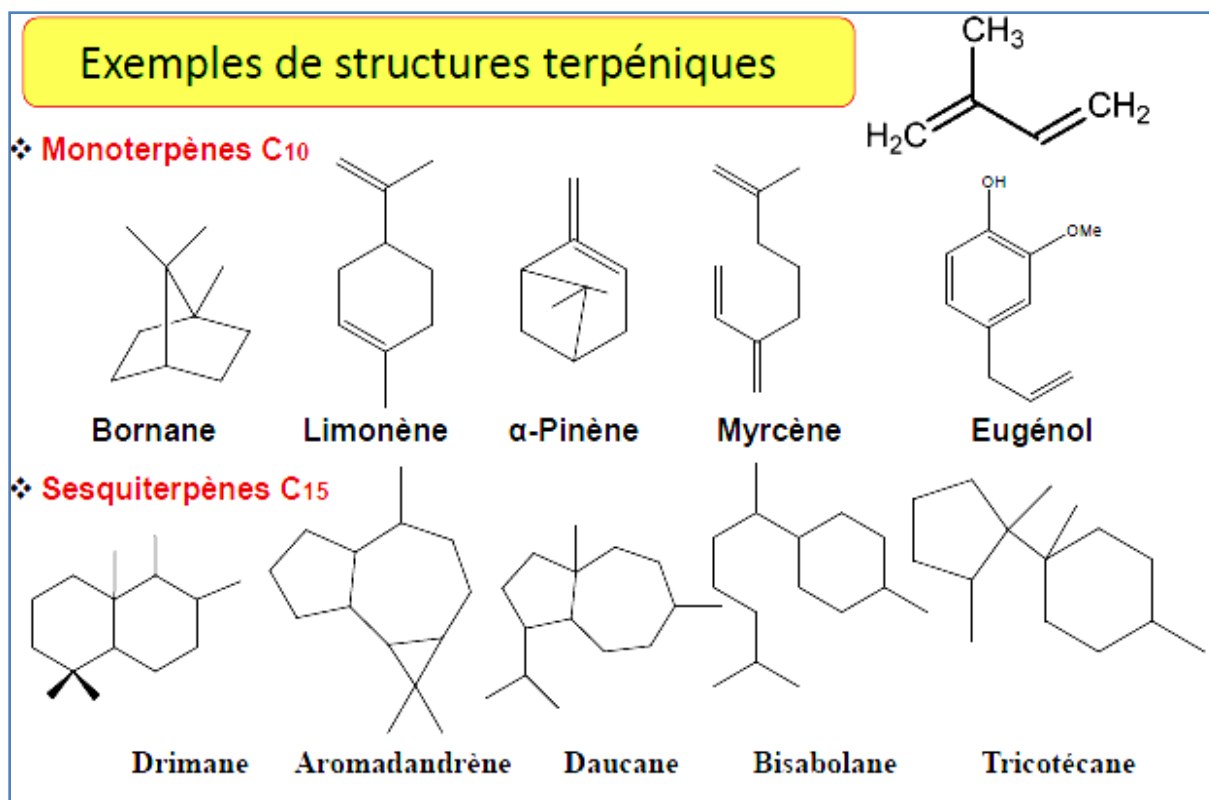


Figure 7: Exemples de structures terpéniques (Dehak, 2013).

- Les diterpènes : 4C₅ (20 atomes de C)
- Les sesterpènes : 5C₅ (25 atomes de C)
- Les triterpènes : 30 atomes de C
- Les tétraterpènes : 40 atomes de C

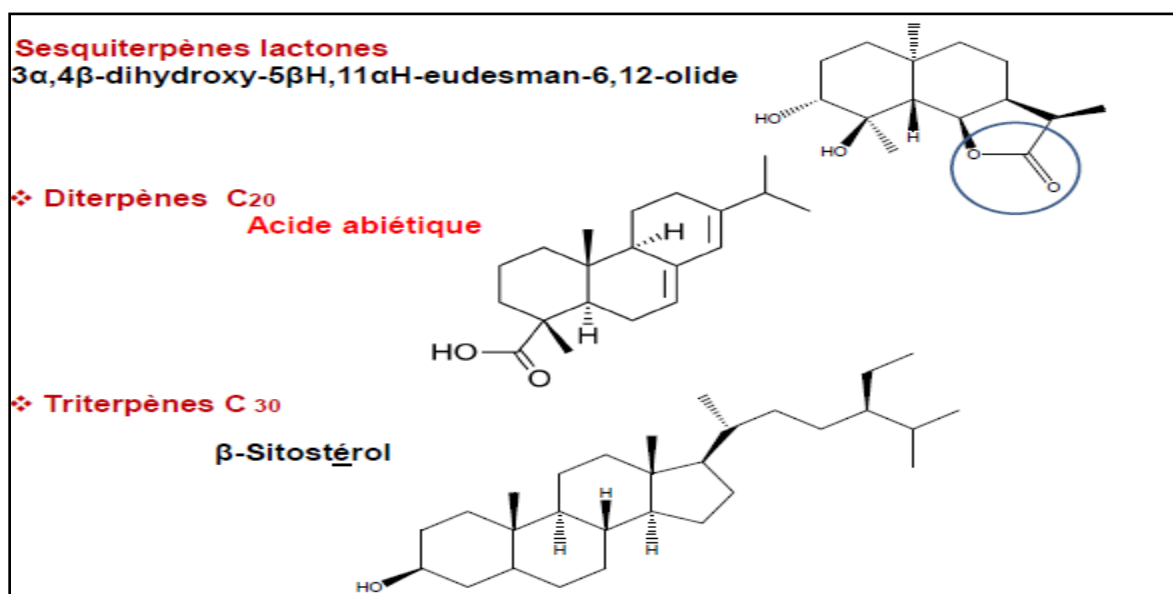


Figure 8 : Exemples de structures terpéniques (Dehak, 2013).

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont des métabolites secondaires, dont le rôle écologique a été prouvé, notamment dans le processus de communications et de défense. Les triterpènes, dont plus de 4000 structures sont connues, sont représentés par plus de 40 squelettes différents. L'intérêt thérapeutique et l'emploi industriel des triterpènes en font un groupe de métabolites secondaires de première importance (**Hamimed, 2009**).

9.2. Les sesquiterpènes

Ce sont des hydrocarbures de formule **C₁₅** ; ils sont acycliques, monocycliques ou bicycliques. Par rapport aux monoterpènes, les sesquiterpènes offrent un plus grand nombre de possibilités de cyclisation, cependant, à l'intérieur de chaque groupe, il y a plusieurs différents composés connus. La grande majorité de sesquiterpènes sont présents dans les huiles essentielles. On peut également rencontrer dans les plantes, des lactones sesquiterpéniques variées. On connaît plus de 100 squelettes différents de structures sesquiterpéniques, ces diversités trouvent leur origine dans les potentialités réactionnelles de leur précurseur commun, le pyrophosphate de farnésyle (FPP) (**Belloum, 2007**).

9.3. Les triterpénoïdes

Les triterpénoïdes forment un groupe de produits naturels contenant dans leur squelette une trentaine d'atomes de carbone, et dérivant du squalène par une variété de cyclisations et d'autres modifications. L'étude du squelette carboné des triterpènes a été l'application systématique de la règle isoprénique ; cette règle consiste à poser en principe que le squelette carboné d'un triterpène résulte de la condensation de six molécules d'isoprène, la formule de base donc est : $C_5H_8 \times 6 = C_{30}H_{48}$ (**Belloum, 2007**).

Chapitre II : Activité antimicrobienne des polyphénols

I. Utilisation des plantes médicinales

Les plantes, éléments vitaux de la diversité biologique servent essentiellement au bien être humain. Après avoir longtemps combattu la médecine traditionnelle, médecins et organismes de santé portent davantage un intérêt aux valeurs et à l'efficacité des traitements par les plantes (Mpondo Mpondo *et al.*, 2015).

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement des principes actifs datant du XIX^{ème} siècle, en améliorant la connaissance des structures, a fait progressivement se séparer et parfois s'opposer une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue (Bekkouche, 2007).

Les polyphénols sont en effet doués de multiples vertus thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et agroalimentaires : ils jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique. Expliquant de ce fait leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (surtout fongiques) risquant de causer la perte d' une grande quantité de végétation (Akroum, 2006).

Les plantes médicinales et leur utilisation peuvent jouer un rôle important dans l'économie surtout dans les pays en voie de développement qui peuvent à un certain degré remplacer quelques importations des pays développés, d'où la nécessité d'une meilleure prise en charge de ce patrimoine national (étude, culture, protection...) et de ce fait les travaux sur la chimie de ces plantes développés aux niveaux des universités et des institutions doivent être encouragés pour mettre en évidence la spécificité de ces plantes (Belloum, 2007).

II. Emplois thérapeutiques des polyphénols

2.1. Emplois thérapeutiques des flavonoïdes

L'utilité thérapeutique de ces composés a été démontrée dans les hémorragies gastro-intestinales, avortement habituel, ménorragie, cystite saignante, tuberculose hémoptysie, la maladie de Meniere, épistaxis, rétinopathie, hémorroïdes et syndrome de Raynaud. Ils ont été fréquemment combinés avec la vitamine K et l'acide ascorbique. Récemment, Les **rutosides**

hydroxyéthylés s'ont avérés efficaces dans l'allègement des symptômes provoqués par l'insuffisance veineuse chronique des membres inférieurs, varicosités de grossesse et d'autres maladies veineuses (**Harrar, 2012**).

◆ **Antioxydantes**, les flavonoïdes peuvent donc protéger les constituants cellulaires contre les dommages oxydatifs et, donc potentiellement limiter les risques de maladies dégénératives associées au stress oxydant. Leur activité antioxydante a été observée dans divers modèles animal ou *in vitro*.

◆ **Anti-inflammatoires** : à de fortes doses, la **quercétine** et la **myricétine** inhibent la cyclooxygénase et la lipoxigénase, évitant ainsi le métabolisme de prostaglandines et de leucotriènes intervenant dans les phénomènes inflammatoires. Les flavonoïdes, en particulier la quercétine, inhibent l'activité de certaines enzymes comme la NADPH oxydase et la myéloperoxydase chez les neutrophiles activés.

◆ **Anti-allergiques** : Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca^{2+} -dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase Ca^{2+} -dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (**Nkhili, 2009**).

◆ **Anti-cancéreuses** : Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse. En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes. Des cellules impliquées, comme les hépatocytes, synthétisent des enzymes dites de phase I (notamment des monooxygénases, telle que les cytochromes P-450) qui peuvent oxyder les substances mutagènes hydrophobes en produits constituant le substrat des enzymes de phase II (glucuronyl transférases, sulfotransférases...). Ces dernières convertissent leurs substrats en espèces hydrolysables facilement excrétées hors des cellules. Les enzymes de phase I et II agissent également dans la muqueuse intestinale. Elles sont synthétisées sous l'action des substances **polyphénoliques** trouvées dans les légumes, et aussi sous l'action des isothiocyanates (dérivés des glucosinolates). Parmi les

flavonoïdes les plus actifs sur les cellules tumorales, nous citons **la quercétine** et la **catéchine** qui sont très abondantes dans les aliments. La quercétine prévient la cancérogenèse, surtout le cancer de la peau et du colon. La présence de 20 % de quercétine dans l'alimentation chez les animaux diminue le cancer du colon et y prévient l'apparition des cryptes anormales. Le mécanisme suggéré est que la quercétine joue le rôle d'un antagoniste des topoisomérases I et II produites par les cellules tumorales. La catéchine, quant à elle, est un inhibiteur de certaines réactions d'oxydation donnant un ADN anormal, elle inhibe surtout la formation du 8-hydroxydes oxyguanosine (8-OHDG), un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN. La catéchine a été démontrée comme étant plus active que la vitamine E sur les radicaux libres. Elle est très abondante dans le thé sous forme d'épigallo catéchingallate (EGCG) (Akroum, 2011).

2.1.1. Propriétés immunologiques des flavonoïdes

De nombreux travaux semblent indiquer que les **flavonoïdes** possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire. Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T. Leur effet sur les lymphocytes B ou T peut être variable: en effet, les **flavones** (apigénine, lutéoline et 7,3',4' hydroxyflavone) et les **flavonols** (kaempférol, quercétine et myricétine) inhibent la prolifération des lymphocytes T alors que la **myricétine** est active sur les lymphocytes B. L'effet antiprolifératif des flavonoïdes pourraient s'expliquer par leur capacité à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (protéine Kinase C ou protéine tyrosine kinase) (Kebieche, 2009).

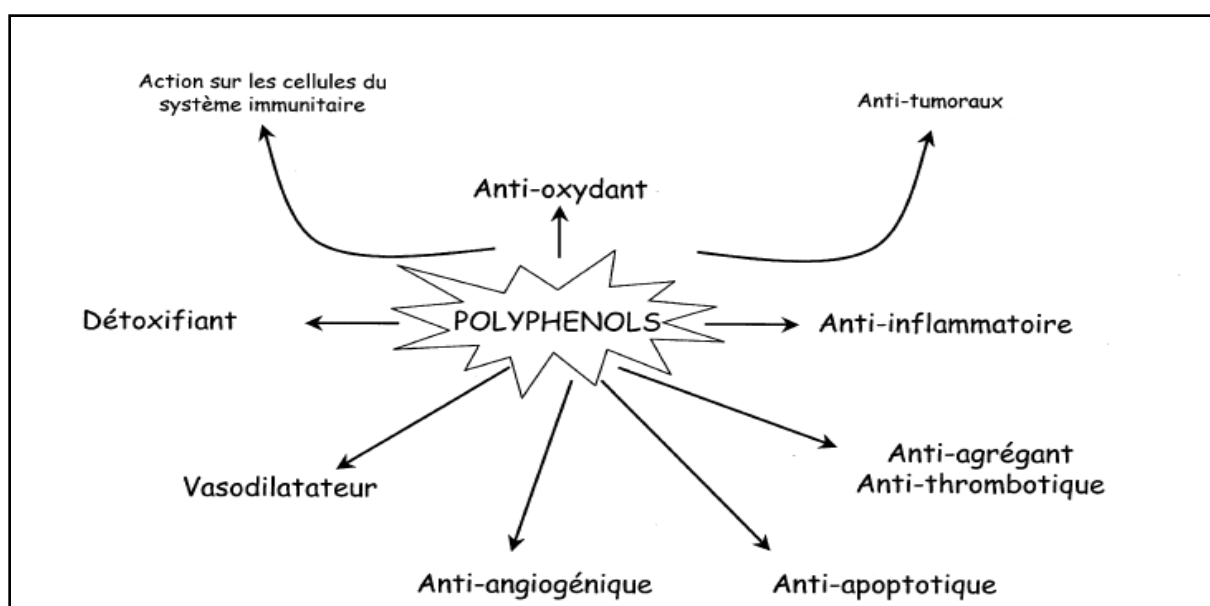


Figure 9 : Effets biologiques des polyphénols (Harrar, 2012).

2.2. Emplois thérapeutiques des tanins

2.2.1. Activité thérapeutique due à l'astringence

Par voie externe, les tanins imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacentes ; elles ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant les pertes en fluides et en empêchant les agressions extérieures, les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlure. Sur les blessures, les tanins induisent la cicatrisation par différents mécanismes cellulaires, en favorisant la contraction de blessure, l'augmentation de la formation des vaisseaux capillaires et des fibroblastes ; et induisant la prolifération des kératinocytes. Par voie interne, ils exercent un effet antidiarrhéique, qui est du à l'inhibition de la motilité intestinale (**Zoughlache, 2009**).

III. Activité antimicrobienne des polyphénols

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. Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (**Benbrinis, 2012**).

3.1. Bases biochimiques de l'activité antimicrobienne

Le mécanisme par lequel les antimicrobiens agissent, a été bien établi, et a permis de les classer suivant leurs sites d'action :

- Certains inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.
- D'autres altèrent la membrane cytoplasmique, provoquant des troubles du taux de perméabilité.
- Certains inhibent la synthèse des acides nucléiques.
- Beaucoup perturbent la synthèse protéique au niveau du ribosome (**Darouimokaddem, 2012**).

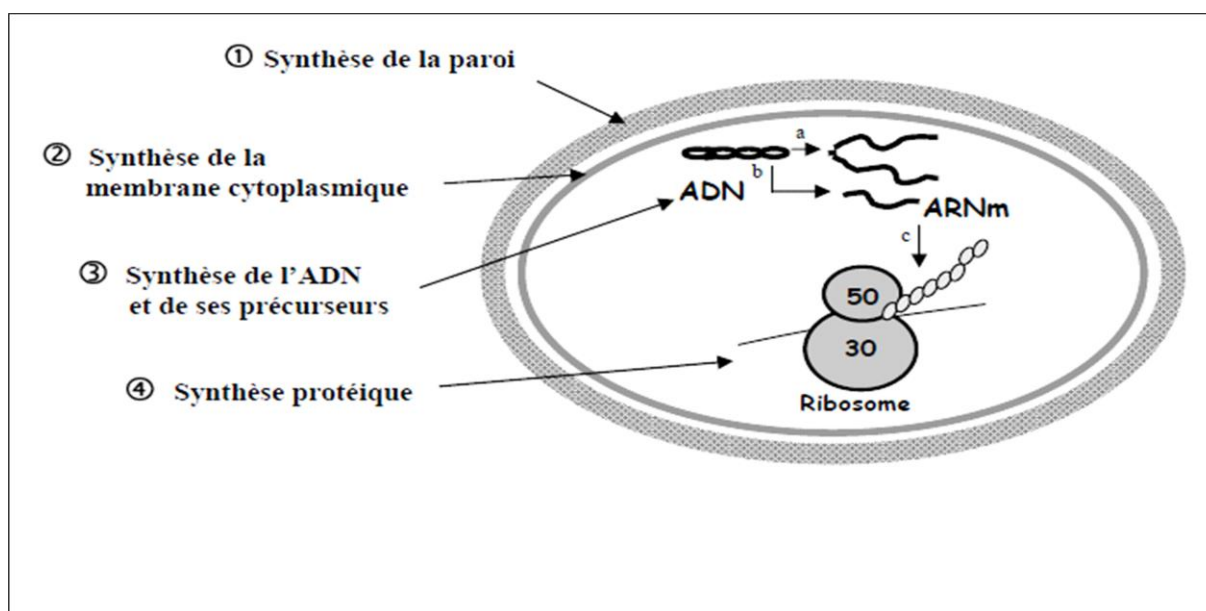


Figure 10: Mode d'action des antibiotiques (a: réplication de l'ADN, b: transcription de l'ADN, c : traduction de l'ARNm) (Daroui-mokaddem, 2012).

3.2. Mécanismes des effets antimicrobiens des polyphénols :

Il est sans doute très complexe, pour impliquer multiples modes d'actions tels que : l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer, l'inhibition du métabolisme microbien, dégradation de la paroi cellulaire, perturbation de la membrane cytoplasmique, se qui cause une fuite des composants cellulaires, l'influence de la synthèse de l'ADN et l'ARN, des protéines des lipides, et la fonction mitochondriale, ainsi que la formation des complexes avec la paroi. Ces mécanismes ne sont pas des cibles séparées, certains peuvent être comme conséquence d'un autre mécanisme. Le mode d'action des agents antimicrobiens dépend également du type de micro-organismes et à l'arrangement de la membrane externe (Harrar, 2012).

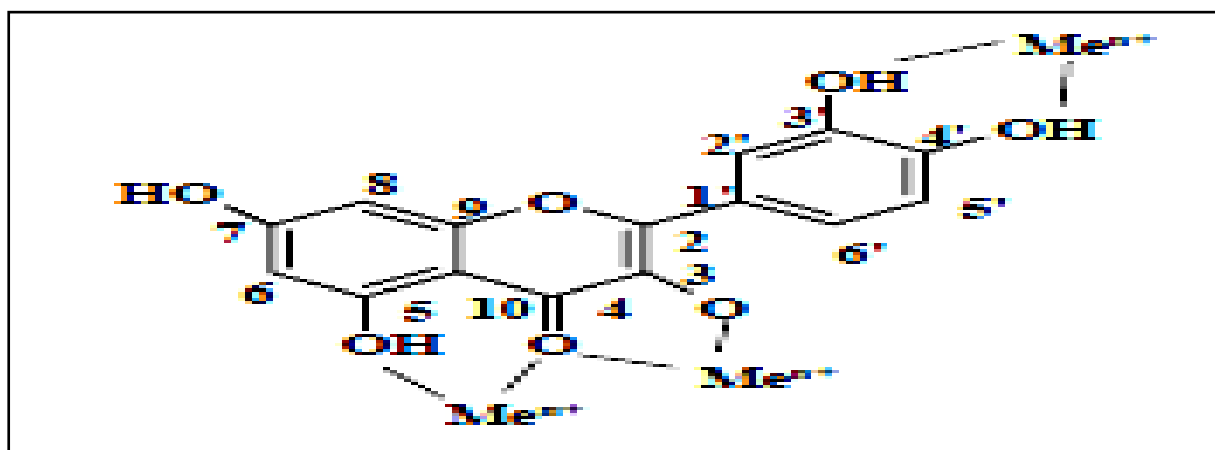


Figure 11 : Chélation des métaux par les flavonols (Chebil, 2006).

Tableau 1 : Modes d'actions antimicrobiennes de quelques polyphénols (Djabali, 2012).

Différents phénoliques	composés	Exemples	Mécanismes
Phénols simples		Catéchol Epicatechine	Privation de substrat. Interruption de la fonction membranaire.
Acides phénoliques Quinones		Acide Cinnamique Hypericine	
Tanins		Ellagitannine	Liaison aux protéines. Inhibition de l'enzyme. Privation du substrat. Complexe avec la paroi cellulaire. Interruption de la fonction membranaire. Complexe avec les ions métalliques.
Coumarines		Warfarine	Interaction avec l'ADN des eucaryotes (activité antivirale).

3.3. Mécanismes antibactériens d'action de divers flavonoïdes

3.3.1. L'inhibition de la synthèse d'acide nucléique

Dans une étude utilisant des précurseurs radioactifs, **Mori** et ses collègues ont montré que la synthèse d'ADN a été fortement inhibée par les flavonoïdes dans *Proteus vulgaris*, tandis que la synthèse de l'ARN a été la plus touchée dans *S. aureus*. Les flavonoïdes présentant cette activité ont été **robinétine**, **myricétine** et (-) - **épigallocatechine**.

La synthèse de protéines et de lipides ont été également touchés mais dans une moindre mesure. Les auteurs ont suggéré que le cycle B des flavonoïdes peut jouer un rôle dans l'intercalation ou une liaison hydrogène avec l'empilement de bases d'acide nucléique et que ceci peut expliquer l'action inhibitrice sur la synthèse d'ADN et d'ARN.

Plus récemment, **Plaper** et ses collègues ont rapporté que la **quercétine** se lie à la sous-unité GyrB de l'ADN gyrase d'*E. coli* et inhibe l'activité enzymatique d'ATPase (**Tim Cushnie et al., 2005**).

3.3.2. L'inhibition de la fonction de la membrane cytoplasmique

Une équipe de recherche qui avait déjà trouvé **sophoraflavanone G** d'avoir une activité antibactérienne intensive contre le SARM et les streptocoques suggère que sophoraflavanone G réduit la fluidité des couches externe et interne des membranes.

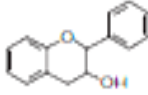
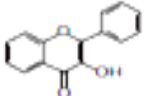
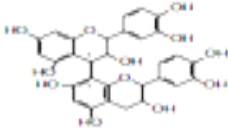
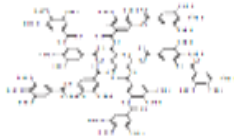
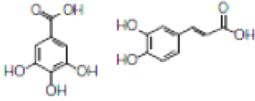
Un autre groupe, **Ikigai** et ses collègues, a effectué des recherches sur la (-) - **épigallocatechine gallate**, une catéchine fortement antibactérienne présente dans le thé vert. Les catéchines sont un groupe de flavonoïdes qui semblent avoir une plus grande activité contre les bactéries Gram-positives que les bactéries Gram-négatives. Dans cette étude, les liposomes ont été de nouveau utilisés comme modèles de membranes bactériennes, et il a été montré que l'épigallo catéchine gallate induit une fuite de petites molécules par un espace intra liposomale. L'agrégation a également été notée dans des liposomes traités avec le composé. Le groupe a donc conclu que les catéchines agissent principalement sur les membranes bactériennes et les endommagent (**Tim Cushnie et al., 2005**).

3.3.3. L'inhibition du métabolisme de l'énergie

Haraguchi et ses collègues ont récemment réalisé une enquête sur le mode d'action antibactérienne de deux **retrochalcones** (licochalcone A et C) à partir des racines de *Glycyrrhiza inflata*. Ces flavonoïdes ont démontré une activité inhibitrice contre *S. aureus* et *Micrococcus luteus*, mais pas contre *E. coli*, et dans des essais préliminaires licochalcone A a inhibé l'incorporation de précurseurs radioactifs dans les macromolécules (ADN, ARN et protéine). Le groupe a émis l'hypothèse que les licochalcones peuvent interférer avec le métabolisme énergétique d'une manière similaire aux antibiotiques inhibant la respiration, puisque l'énergie est nécessaire pour l'absorption active de divers métabolites et pour la biosynthèse de macromolécules. Fait intéressant, les licochalcones se sont révélés inhiber fortement la consommation d'oxygène dans *M. luteus* et *S. aureus* mais pas dans *E. coli*, qui est bien corrélée avec le spectre observé d'activité antibactérienne. Le groupe a ensuite démontré que licochalcones A et C inhibe efficacement c réductase NADH-cytochrome, mais pas la cytochrome c oxydase ou NADH-CoQ réductase.

Merck Research Laboratories a récemment rapporté que la flavanone lonchocarpol A inhibe la synthèse macromoléculaire dans *Bacillus megaterium*. L'utilisation de précurseurs radioactifs a été démontrée que, l'ADN, la paroi cellulaire et la synthèse des protéines ont toutes été inhibées à des concentrations similaires à la valeur de CMI. Cela peut représenter un autre exemple d'un flavonoïde qui interfère avec le métabolisme énergétique (**Tim Cushnie et al., 2005**).

Tableau 2: Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne (Benbrinis, 2012).

Composés phénoliques et leurs structures	Microorganismes sensibles	Exemples
 <p>Flavane-3-ol</p>	Bactéries	<i>V.cholerae</i> , <i>S.mutans</i> , <i>C.jejuni</i> , <i>C.perfringes</i> , <i>E.coli</i> , <i>B.Cereus</i> , <i>H.pylori</i> , <i>S.aureus</i> , <i>L.acidophilus</i> , <i>A.naaslundii</i> , <i>P.oralis</i> , <i>P.gingivalis</i> , <i>P.melaninogenica</i> , <i>F.nucleatum</i> , <i>C.pneumonia</i>
 <p>Flavonole</p>	Virus	Adénovirus, Entérovirus, Flu virus.
	Champignons	<i>Candida albicans</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> .
 <p>Tannins condensés</p>	Bactéries	<i>S.mutans</i> , <i>E.coli</i> , <i>S.aureus</i> .
	Virus	Varus de l'influenza A, type -1 herpes simplex virus (HSV).
 <p>Tannins hydrolysables</p>	Bactéries	Différentes souches de: <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Helicobacter</i> , <i>E.coli</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Listeria</i> .
	Virus	Le virus Epstein-Barr, les virus Herpes HSV-1 et HSV-2.
	Champignons	<i>Candida parapsilosis</i> .
 <p>Acides phénoliques</p>	Bactéries	<i>S.aureus</i> , <i>L.monocytogenes</i> , <i>E.coli</i> , <i>P.aeruginosa</i> .

3.4. Activités antimicrobienne des flavonoïdes

Grâce à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique, et d'autres fonctions chimiques, les flavonoïdes sont considérés de très bons agents antimicrobiens. De nombreuses études ont rapporté les activités antimicrobiennes des flavonoïdes (**Kebieche, 2009**).

Les flavonoïdes sont souvent des molécules de défense contre les organismes pathogènes, il n'est donc pas surprenant que certains de ces composés possèdent un potentiel en thérapeutique contre les microorganismes (bactéries, virus, champignons), contre les parasites et les insectes. Les flavonoïdes sous leur forme glycosylée (b-glycosides) ne sont pas absorbables. Néanmoins, il existe des enzymes au niveau intestinal capables d'hydrolyser les hétérosides. De plus, certains microorganismes présents dans l'intestin sont capables d'hydrolyser les b-glycosides en aglycones et ainsi leur permettre de franchir la barrière intestinale (**Morel, 2012**).

❖ **Activité antibactérienne**

Bien que le mécanisme d'action des flavonoïdes sur les microorganismes demeure encore imprécis, certaines études ont commencé à donner un début d'explication de leur activité antibactérienne en citant des exemples bien explicites ; comme celui de **la quercétine** censée agir sur l'ADN gyrase d'*Escherichia coli*. En effet, selon les travaux de Dadi et ses collaborateurs, **la quercétine** serait capable d'inhiber la gyrase bactérienne par deux mécanismes :

- Elle se fixe sur l'ADN au niveau des sites d'insertion de l'enzyme bloquant ainsi son activité,
- Elle bloque le site de fixation de l'ATP se trouvant sur l'ADN gyrase.

Dans les deux cas l'action du flavonoïde se manifeste par le clivage de l'ADN bactérien, désormais incapable de subir les modifications topologiques nécessaires à son bon fonctionnement (**Akroum, 2011**).

L'hydrophobicité des polyphénols tels que les **flavonoles** est aussi un critère de toxicité qui leur permet de s'insérer dans les phospholipides membranaires et exercer leurs effets antibactériens à l'intérieur de la cellule. Ce qui aboutit à la déstabilisation de la membrane cytoplasmique pour la rendre perméable, l'inhibition des enzymes bactériennes extracellulaires, l'action directe sur le métabolisme bactérien et la privation des substrats requis pour la croissance bactérienne, spécialement les micronutriments minéraux essentiels

comme le fer et le zinc (via la propriété de chélation des métaux) sont des mécanismes adaptés par les proanthocyanidines dans l'inhibition des bactéries (**Benbrinis, 2012**).

- **Action sur les bactéries des caries dentaires**

L'**érichristagalline** (isoflavonoïde prénylé) apparaît comme un agent intéressant pour la prévention des caries dentaires en inhibant la croissance bactérienne et en interférant avec l'incorporation du glucose, diminuant ainsi la synthèse d'acides organiques (**Morel, 2012**).

- **Action sur *Helicobacter pylori***

Des **roténoïdes prénylés** ont montré une activité sur *H. pylori* par inhibition de l'oxydation de NADH de la chaîne respiratoire de la bactérie. La présence de carbones saturés en 6a et 12a semble indispensable à l'activité, de plus le cycle E doit être un cycle à 6. Des isoflavonoïdes de la réglisse ont également une action sur *H. pylori* (**Morel, 2012**).

- ❖ **Activité antifongique**

Beaucoup de flavonoïdes possèdent des propriétés antifongiques : inhibition de cellulases microbiennes, de xylanases, pectinases, chélation de métaux nécessaires aux enzymes, formation d'une structure dure et cristalline agissant comme une barrière physique aux pathogènes. Les flavonoïdes jouent aussi un rôle important dans la résistance fongique, après la récolte, des fruits et des légumes. De fortes concentrations en flavonoïdes dans les fruits sont, en effet, très souvent corrélées avec une faible incidence de pathogènes. Cette constatation est d'ailleurs mise à profit pour mieux conserver les fruits. Par exemple, l'irradiation UV de *Citrus aurantium* entraîne une augmentation de la concentration en flavonoïdes et réduit la contamination par *Penicillium digitatum*. Quelque soit la classe de flavonoïdes considérée, il apparaît que le caractère lipophile des composés augmente l'activité, permettant aux molécules de pénétrer plus facilement à travers la membrane fongique. De plus, la présence d'une chaîne isoprène apparaît comme importante pour l'activité mais pas essentielle (**Morel, 2012**).

- ❖ **Activité antivirale**

La **génistéine**, ainsi que d'autres flavonoïdes (quercétine, kaempférol, 5, 6,7-triméthoxyflavone, 3-méthylkaempférol) sont actifs *in vitro* sur plusieurs souches virales, que ce soit des virus non-enveloppés (poliovirus, adénovirus) ou des virus enveloppés (*Retroviridae* comme VIH, *Flaviviridae*, Herpes virus...). Le flavonoïde le plus étudié est de loin la génistéine, néanmoins les mécanismes d'action ne sont pas clairement élucidés. La génistéine pourrait être active en inhibant la PTK (inhibition de l'entrée du virus), en inhibant la phosphorylation de la glycoprotéine E et d'autres polypeptides viraux (inhibition de

l'assemblage du virus), en inhibant la sécrétion du facteur TNF- α , ou en inhibant l'expression de certains gènes viraux (inhibition de la réplication virale) (Morel, 2012).

Les travaux de Spedding *et al.*, (1989) ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Ils ont démontré que les flavonoïdes sont de bons inhibiteurs de la reverse transcriptase. Récemment des chercheurs ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV, empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte.

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale de cellules en culture. Une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral:

- au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte,
- au niveau de la réplication du virus et la synthèse des protéines virales,
- au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte (Kebieche,

2009)

❖ **Activité antiparasitaire**

Leishmania sp.

Dans une étude, menée par Tasdemir *et al.* (2006), sur une centaine de flavonoïdes testés pour leur activité contre *Leishmania donovani*, pratiquement toutes les flavones et les flavon-3-ols sous forme aglycone sont actifs. Pour les flavones, la présence de deux OH, en particulier en positions 5, 7 et 8 augmente l'activité, alors que des méthyloxylation diminuent cet effet. Les composés avec la meilleure activité sont les flavon-3-ols, les méthyloxylation diminuent l'activité. Les hydroxylation ont une influence sur l'activité, mais il est difficile d'établir des relations structures activités, néanmoins le flavan-3-ol le plus actif comporte 4 hydroxyles (fisétine). De plus, une glycosylation en position 3 et 5 diminue drastiquement l'activité. Même si les flavanone saglycones et les flavan-3-ols testées possèdent une activité, ces composés sont moins actifs que les flavones et flavon-3-ols correspondants, ce qui suggère l'importance de la double liaison en 2,3 dans l'activité anti leishmanienne. De plus, la fonction cétonique en position 4 est essentielle à l'activité (Morel, 2012).

3.5. Activité antimicrobienne des tanins

❖ **Toxicité au microbiote ruminal**

Les polyphénols, en particulier les **tanins condensés**, exercent une action inhibitrice sur la croissance des microorganismes du rumen. Contrairement aux tanins hydrolysables, les tanins

condensés sont très difficiles à dégrader dans les conditions anaérobies qui règnent dans cet écosystème. La toxicité des tanins vis à vis des microorganismes du rumen est décrite pour plusieurs espèces bactériennes, telles que *Streptococcus bovis*, *Butyvirbio fibrosolvans*, *Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella ruminicola*, et *Ruminobacter amylophilis* (Rira, 2006).

Trois mécanismes de toxicité ont été identifiés :

- **Inhibition des enzymes et privation des substrats**

Les tanins ont la capacité d'inhiber les enzymes endocellulaires et extracellulaires sécrétées par les bactéries. Ainsi, l'activité de l'endoglucanase de *Fibrobacter succinogenes* est inhibée *in vitro* par les tanins condensés de *Lotus corniculatus*. En se liant aux protéases extracellulaires, les tanins peuvent réduire la croissance des bactéries protéolytiques, en particulier *Ruminobacter amylophilis*, *Streptococcus bovis* et *Butyvirbio fibrosolvans*.

- **Action sur les membranes**

Les tanins agissent sur les membranes cellulaires des bactéries. Leur effet antimicrobien peut être dû à leur liaison aux protéines des pores de la paroi cellulaire, altérant de ce fait les mécanismes de transport (glucose, acides aminés, ammoniac). Les tanins de faible poids moléculaire peuvent pénétrer à travers les pores de la paroi cellulaire externe et inactiver les perméases du périplasme impliquées dans le transport des acides aminés et des glucides.

- **Action sur les ions**

Les tanins se lient aux ions et perturbent l'absorption de ces oligoéléments indispensables à la croissance des bactéries. En se combinant aux ions de calcium impliqués dans la structure des bactéries à Gram négatif, les tanins affectent la perméabilité de la paroi bactérienne.

En plus de ces effets majeurs, les tanins induisent des changements dans la physiologie de plusieurs espèces de bactéries ruminales. Ils prolongent la phase de latence de certaines bactéries comme *Streptococcus gallolyticus* dont la croissance sur un milieu liquide, en présence de tanins, se caractérise par une longue phase de latence et une faible vitesse de croissance (Rira, 2006).

- ❖ **Activité antifongique des tannins**

Les **tannins condensés** comme les **hydrolysables**, ont une action inhibitrice contre les moisissures et les levures. Comme exemple, on a les **proanthocyanidines** du thé qui ont montré un rôle dans la protection de cette plante contre *Exobasidium vexans*, et les tannins hydrolysables des différentes plantes qui agissent contre une large gamme de champignons filamenteux (*Epidermophyton floccosum*, *Microsporum cassis*, *Trichophyton rubrum*, *Penicillium italicum*, *Aspergillus fumigatus*,...) et de levures opportunistes (*Candida albicans*, *C. glabrata*, *Cryptococcus neoformans*...). Cette action antifongique est

couramment utilisée pendant les opérations œnologiques lors de la manufacture des vins car les tannins polaires de ces derniers ont une grande capacité à se fixer sur les champignons néfastes (Akroum, 2006).

❖ **Activité antivirale**

L'activité antivirale des tanins est due à la fixation des molécules des tanins à l'enveloppe protéique du virus ou la membrane de la cellule hôte et par conséquent l'inhibition de l'adsorption et la pénétration virale ; cependant, dans certains cas la fixation cause seulement des changements mineurs à la surface virale, la pénétration reste mais l'enlèvement de l'enveloppe virale est inhibé. Plusieurs types de virus sont inactivés par les tanins, le virus Herpes simplex (HSV-1, HSV-2) est inhibé par les tanins hydrolysables et les tanins condensés galloylés de plusieurs extraits des plantes. Les tanins peuvent inactiver le virus de la mosaïque de tabac, et poliovirus. L'acide tannique est capable d'inhiber la réplication du virus d'influenza, coxsackievirus, echovirus, reovirus et le virus d'herpes.

Les oligomères proanthocyanidines présentent une activité antivirale contre le virus respiratoire syncytial (RSV), virus d'influenza A (FLU-A) et le virus para influenza (PIV), en outre l'hépatite A et B. Les tanins ont un autre effet inhibiteur de la réplication virale, c'est l'inhibition de la transcriptase inverse des rétrovirus comme virus (HIV) ; cette inhibition est influencée par la galloylation, l'étendue de l'oligomérisation, la différence de la liaison interflavan, la stéréochimie de la fonction 3 hydroxyle (Zoughlache, 2009).

3.6. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les HES ou les volatiles, sont des liquides aromatiques obtenus à partir de différentes parties de plantes (fleurs, bourgeons, graines, feuilles, brindilles, écorce, fruits, herbes et bois) le plus souvent par la méthode de distillation à la vapeur d'eau. Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes constituent les composants actifs les plus importants des HES, dont les mono- et sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (Malecky, 2008).

D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**El Kalamouni, 2010**).

Le mode d'action des HES dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K⁺): ce mécanisme a été observé avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries Gram+ (*Staphylococcus aureus*) et Gram - (*E. coli*) et levure (*Candida albicans*) *in vitro*. Le mode d'action des HES dépend aussi du type de microorganismes: en général, les bactéries Gram - sont plus résistantes que les Gram + grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram - est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines que ceux de Gram + qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les **terpènes** hydrophobes d'y adhérer. Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Malecky, 2008**).

- **Les terpènes** ou terpénoïdes ont des effets contre les bactéries, les mycètes, les virus et les protozoaires. Le **triterpénoïdes**, l'acide betulinique est de juste un de plusieurs terpénoïdes qui ont montré une action inhibitrice envers HIV. Le mécanisme de l'action des terpènes n'est pas entièrement compris mais, on pense qu'il s'agit de la rupture de la membrane par les composés lipophiles.

-**Le carvacrol**, thymol possède une activité antibactérienne, activité antifongique contre les mycètes phytopathogènes, également l'huile essentielle de la Menthe pouliot dont le composé majoritaire est la R (+) Puléogone (82%) qui est dotée d'un fort pouvoir antifongique contre *Penicillium* et *Mucor*.

-Chez *Inula helenium* (*Elecampane*, en anglais) l'**alantolactone** et son isomère sont les composants majeurs de l'huile essentielle et ont des propriétés antibactériennes notamment contre *Mycobacterium tuberculosis*, anti-protozoaire contre *Entamoeba histolytica*, qui cause des amibiases et antifongiques contre les pathogènes opportunistes comme certains dermatophytes (**Mohammedi, 2006**).

-**Les lactones sesquiterpéniques**, isolées de plusieurs espèces de *Vernonia*, sont connues pour leurs propriétés antihelminthiques, anti-amibiennes, antitumorales et antibiotiques. Elles

ont aussi une forte activité antiplasmodiale. Le **vernonioside B1**, saponoside stéroïdique, inhibe la mobilité des schistosomes adultes et de leur capacité de ponte. L'activité des **aglycones** est également bonne contre le paludisme et les amibiases (Krief, 2004).

3.6.1. Activité antimicrobienne de sesquiterpene lactone

❖ L'activité antipaludéenne

-Artémisinine et ses dérivés

En 1972, un groupe de chercheurs chinois a isolé un nouveau médicament anti-paludisme – (+)Artémisinine, **une lactone sesquiterpène** du sous-groupe d'amorphe de cadinène de l'extrait de l'hexane d'une plante médicinale traditionnelle chinoise *Artemisia annua* (*Asteraceae*) – une plante qui a été utilisée pour le traitement de la fièvre et le paludisme depuis les temps anciens. L'artémisinine est une lactone sesquiterpène contenant une liaison endoperoxyde en elle. L'artémisinine est actif à des concentrations nano molaires in vitro à la fois contre les souches de *P. falciparum* sensibles et résistantes à la chloroquine.

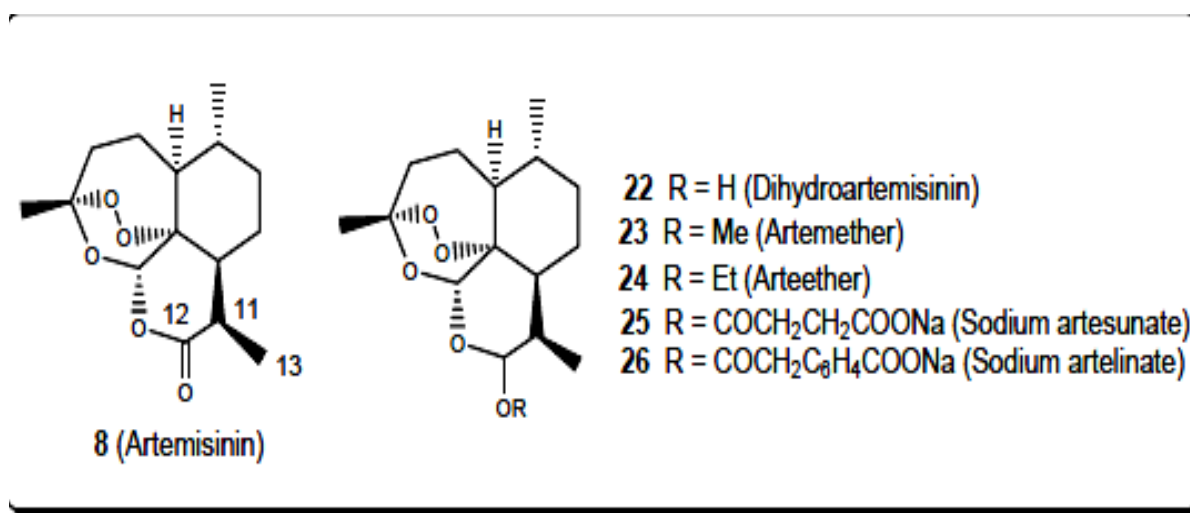


Figure 12: Structure d'artémisinine et ses analogues (Devdutt, 2011).

Dans cette famille, l'Institut Walter Reed de la recherche a breveté, un dérivé soluble dans l'eau stable appelé acide artélinique 26 qui est actuellement testé chez les animaux. Un avantage clé de ces endoperoxydes contenant des agents anti-paludisme, qui ont été utilisés pendant près de deux décennies, est l'absence de la résistance aux médicaments. Il a été réalisé à travers la relation structure-activité (SAR) des artémisinines qui affectent principalement l'activité endoperoxyde antipaludique. Afin d'accroître l'activité

antipaludéenne de ces molécules, les chercheurs du monde entier s'intéressent à synthétiser dimères de l'artémisinine, trimères et tétramères au cours des dernières années. Beaucoup d'entre eux ont montré une activité antipaludique prometteuse que l'artémisinine et de leurs analogues de première génération (**Devdutt, 2011**).

IV. Place des plantes médicinales dans la lutte contre les résistances aux antibiotiques

Les nouveaux composés actifs peuvent être recherchés dans les plantes médicinales, car celles-ci constituent une source potentielle de composés antimicrobiens et/ou inhibiteurs des mécanismes de résistances aux antibiotiques. En effet, de nombreux composés d'origine végétale ont déjà démontré des propriétés antimicrobiennes ; ces composés agissent suivant plusieurs mécanismes :

- ❖ formation de complexes avec des macromolécules telles que les protéines et les polysaccharides, inhibant ainsi leurs fonctions (polyphénols) ;
- ❖ rupture de membranes microbiennes (flavonoïdes lipophiles, terpénoïdes, défensines) ;
- ❖ inhibition de l'adhésion de protéines microbiennes aux récepteurs polysaccharidiques de l'hôte (polypeptides).

Les plantes médicinales fournissent également des composés qui n'ont pas nécessairement un effet direct sur les microorganismes, mais qui augmentent ou restaurent l'activité des antibiotiques en inhibant les mécanismes de résistance. Ces composés appartiennent à diverses classes phytochimiques et agissent comme inhibiteurs des pompes à efflux (flavonoïdes, terpénoïdes, alcaloïdes), inhibiteurs des PBP 2a (quinones, terpénoïdes), provoquant la perméabilité des membranes bactériennes (terpénoïdes) et inhibiteurs des bêta lactamases (alkyls gallates) (**Okusa Ndjolo, 2012**).

Chapitre III : Généralités sur les plantes utilisées

Deux plantes sont utilisées dans cette présente étude. Les feuilles de l'Astéracée *Onopordum acanthium* L et les tiges de la fabacée *Spartium junceum* L sont utilisées.

1. *Onopordum acanthium* L.

L'Onopordon fausse acanthe (*Onopordum acanthium* L.) fait partie de la famille des Astéracées (*Asteraceae*). On l'appelle également Chardon aux ânes, Pet d'âne ou encore artichaut sauvage. Sa période de floraison s'étale de Juillet à Octobre (**Frédéric, 2013**).

1.1. Classification

Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermatophyta</i>
Sous embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Espèce	<i>Onopordum acanthium</i> L.

1.2. Description

Sa hauteur varie de 50 cm à 200 cm. Il s'agit d'une plante bisannuelle. La première année, elle présente une rosette de feuille. Ce n'est que la deuxième année qu'elle présente un aspect dressé et ramifié (**Frédéric, 2013**).

Chardon écossais a des feuilles épineuses robustes avec poils laineux blancs qui leur donnent une fonte grise. Sur la surface inférieure de la feuille il y a plus de poils que celle de la surface supérieure des feuilles. La tige a épineuses "ailes" en cours d'exécution sur la tige. Le contour de la feuille est en forme de spatule étroite en forme d'œuf, mais le schéma général est interrompu par irréguliers dents épineuses le long du bord de la feuille. La longueur de la feuille varie entre 4 et 20 cm, et les feuilles sont disposées dans un motif alterné le long de la tige. Les fleurs sont disposées dans les têtes, généralement avec une tête par branche, mais avec moins de sept têtes par branche. La couleur des fleurs varie du blanc au violet. Le réceptacle (partie inférieure et verte de la tête de la fleur) est charnue et profondément

opposé, mais sans poils. Les tiges et les capitules peuvent persister pendant l'hiver faisant infestations détectables dans l'année subséquente (Schuster *et al.*, 2003).

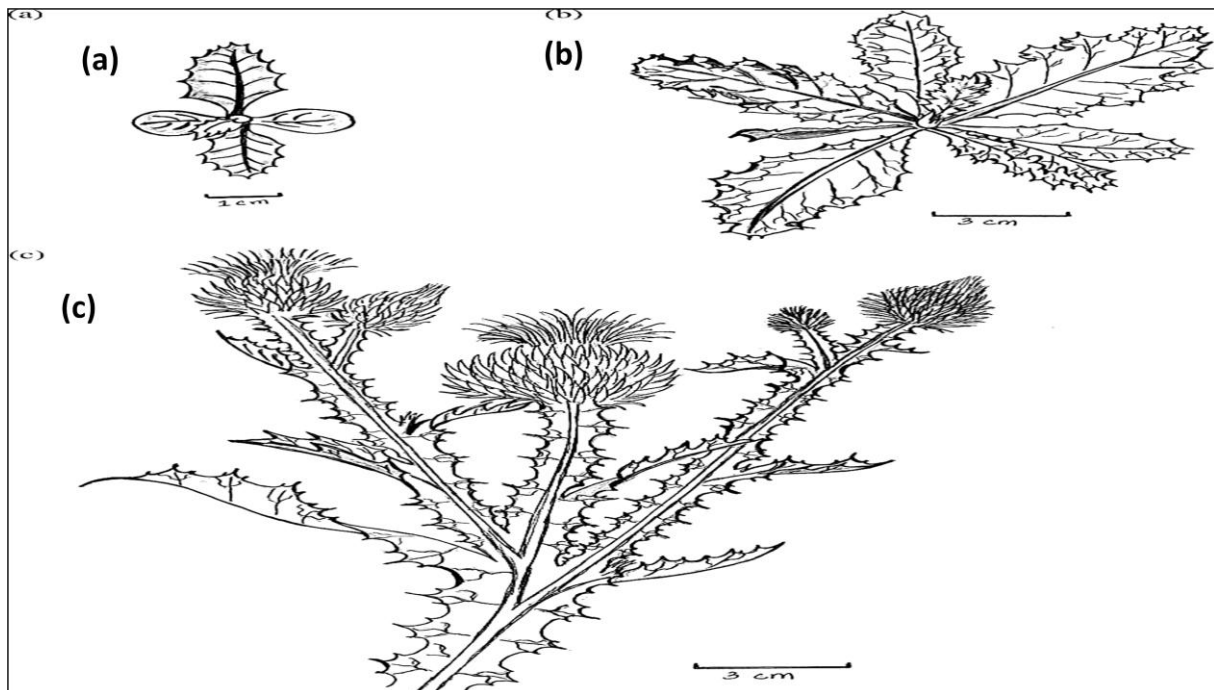


Figure 13: Semis aux cotylédons et deux vraies feuilles stade (a), (b) rosette et (c) plante à fleurs (Cavers *et al.*, 2014).

Les graines sont spatule comme dans la forme avec quatre à cinq surfaces inclinées et sans poils. Les graines ont une tacheté de brun à presque noir. Les graines peuvent germer à l'automne après les pluies ont commencé. La rosette (touffe de feuilles au niveau du sol) reste pendant toute l'année prochaine, en réalisant un diamètre allant jusqu'à 4 pieds et produisant une racine pivotante épaisse. La plante sera généralement boulon après une année comme une rosette et de fleurs en Juillet à Septembre (Schuster *et al.*, 2003).



Figure 14:Fleur d'*Onopordum acanthium* L (Schuster *et al.*, 2003).

1.3. Écologie et biologie

On la retrouve dans toute l'Europe mais aussi en Asie occidentale et centrale. Avec la mondialisation, c'est aux Etats-Unis mais aussi en Australie qu'elle devient envahissante (Frédéric, 2013).

Le Chardon écossais se trouve souvent dans les zones accidentées, préférant des milieux humides fréquemment dominés par les mauvaises herbes annuelles telles que brome des toits.

Les graines sont généralement dispersées sur de longues distances par l'eau, le bétail et l'activité humaine. Chaque fleur peut produire entre 110 à 140 graines. Selon le nombre de fleurs, une plante peut produire entre 8400 à 40 000 graines. Moins de 20 pour cent des semences produites initialement sont prêtes à germer, et le reste se trouve dormant dans le sol pendant 7 à 20 ans comme une réserve pour les futurs établissements de la population (Schuster *et al.*, 2003).



Figure 15: Mature fausse acanthe (Schuster *et al.*, 2003).

1.4. Utilisations

Onopordum acanthium a été utilisée par l'homme dans une variété de façons. Première année, les racines et les jeunes pousses sont utilisées dans les salades et consommées comme herbes potagères en Europe du Sud, et les têtes de fleurs immatures sont préparées comme artichaut. En outre, les " cotons " ont été collectées à partir des tiges de fleurs et utilisé pour oreillers de trucs. Dans la région de Patagonie de l'Argentine, Forcone (2008) a trouvé le pollen d'*O. acanthium* dans 42% des échantillons de miel dans la basse vallée du fleuve Chubut. Cette espèce de plante a été classée comme une " importante source mineure de pollen " pour *Apis mellifera* L. dans ce domaine et en tant que " source de pollen mineure " dans deux autres zones productrices de miel en Patagonie.

Traditionnellement, le jus de chardon Scotch a été utilisé pour traiter la gale, une éruption cutanée, des cancers, des spasmes musculaires, des ulcères, le rachitisme chez les

enfants, et les plaintes nerveux. En Bulgarie, *O. acanthium* est classé comme une plante médicinale utilisée pour traiter les maladies cardiovasculaires et génito-urinaires, comme diurétique et comme un régulateur de la sécrétion gastrique. En Russie, *O. acanthium* est utilisé comme bactéricide et comme un antihypotenseur hémostatique cardiotonique. C'est la base de "Cardiodoron Drops", qui régulent l'activité du système cardio-vasculaire, ils sont efficaces pour une mauvaise circulation sanguine et présentent un effet régénératif. Des extraits aqueux préparés à partir de trois espèces de plantes, y compris de Jordanie *O. acanthium*, étaient efficaces dans l'amélioration de l'activité des cellules NK (Natural killer) des cellules in vitro pour générer une cytotoxicité contre les tumeurs cancéreuses chez la souris. Plus récemment, des effets similaires ont été obtenus en Jordanie sur les cellules NK du sang humain. Rosettes et de même plantes à fleurs d'*O. acanthium* peuvent fournir pâturage pour les chèvres, les moutons et les bovins. En outre, *O. acanthium* a été cultivé souvent comme plante ornementale de jardin et est toujours vendu à cet effet en Colombie-Britannique (Cavers *et al.*, 2014).

2. *Spartium junceum* L.

Junceum Spartium L. est un arbuste vivace de la famille des *Fabaceae*, communément appelé Spanish Broom, Balai de Weaver et Jaune balai Espagnol (Tela Botanica, 2011).

2.1. Classification

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Genre	<i>Spartium</i>
Espèce	<i>Spartium junceum</i> L.



Figure 16: *Spartium junceum* (Martus, 2006).

2.2. Description

Spartium junceum L. Genêt d'Espagne

- Arbrisseau de 1 à 3 mètres, non épineux, dressé, à rameaux effilés, cylindriques, jonciformes, compressibles, finement striés, très glabres, d'un vert glauque, peu feuillés - feuilles simples, oblongues-lancéolées, entières, glabres en dessus, à poils appliqués en dessous.

- fleurs jaunes, grandes, odorantes, en grappes terminales - calice scarieux, glabre, fendu jusqu'à la base en une seule lèvre coupée obliquement et terminée par 5 petites dents - étendard grand, orbiculaire, redressé - carène en bec acuminé - étamines monadelphes.

- style courbé au sommet - gousse de 6-8 cm sur 7 mm linéaire, presque glabre, noire à la maturité, à 12-18 graines non caronculées (Tela Botanica, 2011).



Figure 17 : *Spartium junceum* dans la saison de floraison (Tianming, 2014).

2.3. Les composants chimiques

En 2004, Miraldia *et al.*, ont fait l'extraction de l'huile essentielle de frais fleurs de *Spartium junceum* L. en utilisant l'hydrodistillation 24 constituants principaux ont été

identifiés et les majeures composants étaient tricosane (22,9%), tétricosane (8,9%) et pentacosane (16,1%).

Parce que son effet anti-ulcérogène connu dans la médecine populaire, quelques études ont été faites pour déterminer les molécules responsables. En 1993, une saponine avec deux nouveaux flavonoïdes ont été isolées. En 1999, un nouveau type d'oleanene saponine avec un effet anti ulcérogénique puissant a été isolé à partir de fleurs de *Spartium junceum* L. nommé spartitrioside.

La première détermination quantitative de flavonoïdes a été faite par le chercheur de l'URSS. Dans une étude, des flavonoïdes et des composés phénoliques dans les fleurs de *Spartium junceum* L. ont été analysés, certains flavonoïdes (par exemple, la quercétine et lutéoline) et composants phénoliques (par exemple, l'acide gentisique, l'acide caféique, l'acide p-coumarique et l'acide vanillique) ont été quantitativement déterminées. Les composés ayant une teneur relativement élevée étaient l'acide caféique (37,5 mg / 100 g de l'échantillon sec) et l'acide p-coumarique (22,5 mg / 100 g de l'échantillon sec).

Les alcaloïdes sont également des importantes molécules existantes dans les feuilles, tiges et fleurs de *Spartium junceum*. En 1990, ses alcaloïdes ont été étudiés par Greinwald et collègues. Cystisine, N-méthylcystisine, rhombifoline et épi-baptifoline ont été trouvés comme des principaux alcaloïdes dans cette plante (**Tianming, 2014**)



Figure18: Genêt envahissant prairies naturelles (**Cristina Sanhueza, 2012**).

2.4. Usages et activités biologiques

Outre l'effet anti-ulcérogène, l'activité antioxydante et anti-tumorale sont aussi retrouvées dans des extraits de *Spartium junceum* L.

En 1990, l'huile essentielle de fleurs de cette plante a été testée contre six blastomycètes, six bactéries Gram positive et sept Gram-négatives et a montré un certain degré d'activité antimicrobienne. En 2006, extraits d'hexane et le méthanol obtenus à partir ses fleurs ont été testés pour leurs effets anti-inflammatoires et analgésiques. Une fractionnée partie de l'extraits à hexane a montré un effet anti-inflammatoire alors que tous les extraits ont montré activité analgésique centrale et périphérique (**Tianming, 2014**).

Il faut noter qu'une bonne fibre pourrait être obtenue à partir de rameaux ou tiges de *Spartium junceum* L., avec beaucoup de bonnes propriétés, par exemple, résistance à la traction et modules élastiques. En 2010, un nouveau et efficace processus physico-chimique a été développé pour la production des fibres de cellulose à partir de cette espèce et ce processus pourrait produire des fibres avec de nombreuses propriétés physico-chimiques, tels que la grande résistance mécanique et la grande élasticité (**Tianming, 2014**).

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel végétal

Deux plantes sont utilisées dans cette présente étude. Les feuilles de l'Astéracée *Onopordum acanthium* L et les tiges de la fabacée *Spartium junceum* L sont utilisées.

1.1. Echantillonnage

La plante *Spartium junceum* a été collectée de la commune de Ain Smara dans la wilaya de Constantine. Quant à *Onopordum acanthium*, cette plante est collectée de la commune d'El Hama (wilaya de Khenchela).

1.2. Préparation des extraits des deux plantes

1.2.1. Méthode d'extraction de la phase éther de pétrole

La méthode d'extraction que nous employons est la macération successive par les solvants à polarité croissante (l'éther de pétrole, le chloroforme, acétate de d'éthyle et le butanol).

Notre étude nécessite l'extraction de la phase éther de pétrole qui a pour but d'entraîner les graisses ainsi que les substances lipophiles (**Boudjellal, 2009**).

La matière sèche (feuilles d'*Onopordum acanthium* et tiges de *Spartium junceum*) a été macérée avec le (MeOH / H₂O distillée) (7/3)), l'opération est répétée trois fois (épuisement). L'extrait brut est mélangé avec H₂O distillée adéquat pour réaliser une extraction de la phase aqueuse (liquide-liquide) avec le premier solvant éther de pétrole (50ml) le moins polaire, l'opération est répétée trois fois puis si on veut les autres phases on peut augmenter la polarité du solvant à savoir : chloroforme, acétate d'éthyle et ou avec le butanol.

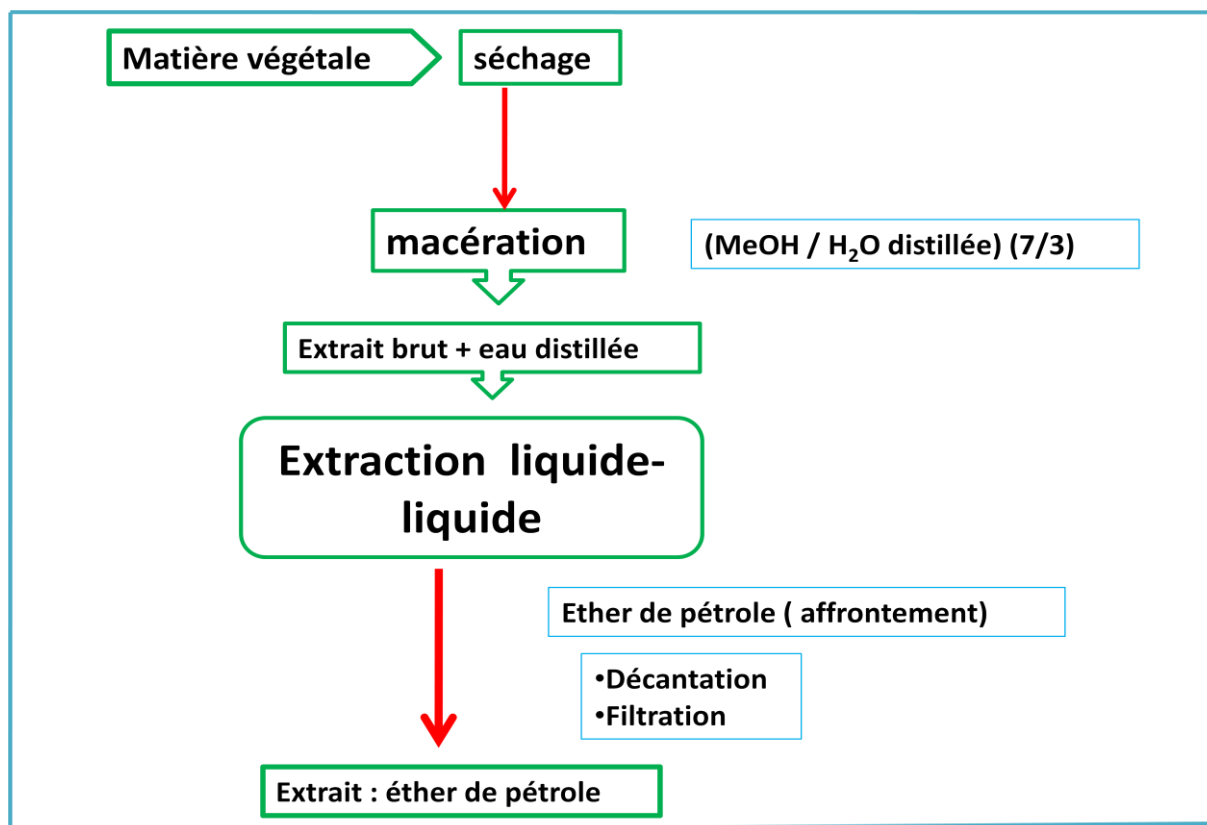


Figure 19 : Protocole de l'extraction de la phase éther de pétrole.

1.2.2. Préparation des dilutions des extraits pour le test de sensibilité

En se basant sur des essais préalables, une gamme de solutions de concentrations allant de 25mg/ml à 200 mg/ml a été préparée comme suit:

- 0.24g de chaque extrait sont introduits dans un tube contenant 1.2 ml du DMSO (diméthyle sulfoxyde), pour obtenir la concentration 200mg/ml ;
- 600µl de l'extrait solubilisé sont ensuite introduits dans un autre tube contenant 600µl du DMSO (100 mg/ml) ;
- Procéder de la même manière pour obtenir 50 et 25 mg/ml.

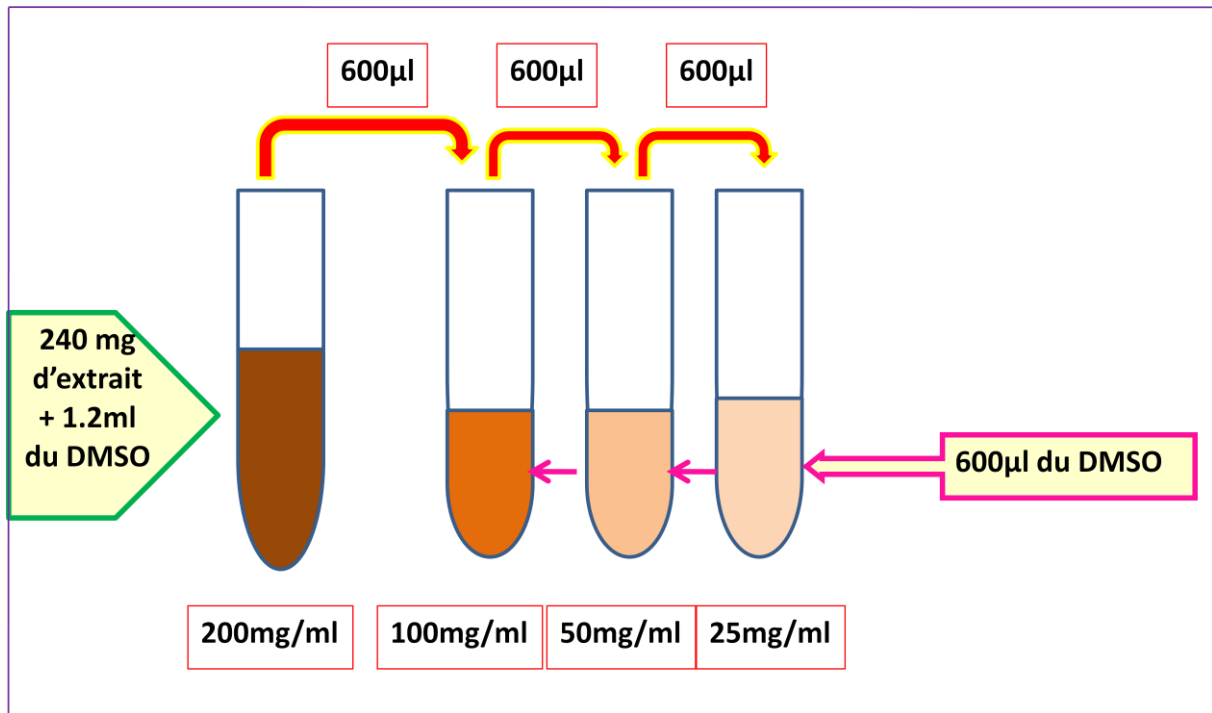


Figure 20 : Préparation des dilutions des extraits pour méthode de diffusion en milieu gélosé.

II. Matériels de laboratoire

Autoclave, étuve, four Pasteur, spectrophotomètre, vortex, bec Bunsen, bain Marie, balance de précision, disques de papiers Wattman n°3(diamètre : 6mm), écouvillons, micropipette, cônes des micropipettes.

2.1. Produits chimiques :

- **Solutions :** DMSO (diméthyle sulfoxyde), H_2SO_4 (acide sulfurique), $BaCl_2$ (Chlorure de Baryum), eau physiologique, eau distillée.
- **Les milieux de culture utilisés :** Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :
 - La gélose **nutritive** pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes ;
 - Le **bouillon nutritif** pour la détermination de la CMI ;
 - La gélose **Mueller Hinton** (annexe N°1) pour l'étude de la sensibilité des bactéries à l'extrait des plantes et la détermination de la CMB;
 - La gélose **Sabouraud** (annexe N°1) pour la culture et l'entretien des champignons et l'étude de leur sensibilité à l'extrait (**Yakhlef, 2010**).

2.2. Souches microbiennes utilisées :

Les souches bactériennes utilisées sont des souches de référence obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC), il s'agit de :

- *Staphylococcus aureus* (ATCC 433005) sauvage
- *Escherichia coli* (ATCC 25922)
- *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) résistante à la méticilline
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

Et en plus d'une souche clinique, *Salmonella ssp*

Les souches fongiques disponibles au niveau de notre laboratoire :

- *Aspergillus niger*
- *Fusarium oxysporum*

III. Méthodes

3.1. Méthode de diffusion en milieu gélosé

La méthode de diffusion est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle convient pour la majorité des bactéries pathogènes incluant les bactéries à croissance lente ; elle permet une variété dans le choix des antibiotiques et ne requiert aucun matériel particulier (Bonnet *et al.*, 2014).

La méthode de diffusion à partir d'un disque solide a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des germes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques et des extraits bruts (Yakhlef, 2010).

Cette technique consiste à diffuser une substance antimicrobienne dans un milieu de culture gélosé, en réalisant un gradient de concentration à partir d'une source de support : disque de papier pré imprégné (disque stérilisé) (Bekkouche, 2007).

3.1.1. Mise en évidence de l'activité antibactérienne

3.1.1.1. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. On prélève à l'aide d'une anse de platine quelques colonies de même morphologie de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 9 ml d'eau physiologique stérile, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.13 à 625 nm (Harrar, 2012). Cet étalon se prépare en versant 0.5 ml d'une solution de BaCl₂ dihydraté à 1% dans une éprouvette, et compléter à 100 ml avec du H₂SO₄ à 1%. Ainsi l'étalon

doit présenter une DO de 0.08 à 0.1 lue à 625 nm (annexe N°2). Ajuster l'inoculum, soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou l'eau physiologique stérile, s'il est trop fort (**Benzeggouta, 2005**). L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation. Son emploi doit être fait au plus tard dans les 60 min qui suivent sa préparation (**Bonnet et al., 2014**).

3.1.1.2. Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même (**Benzeggouta, 2005**).

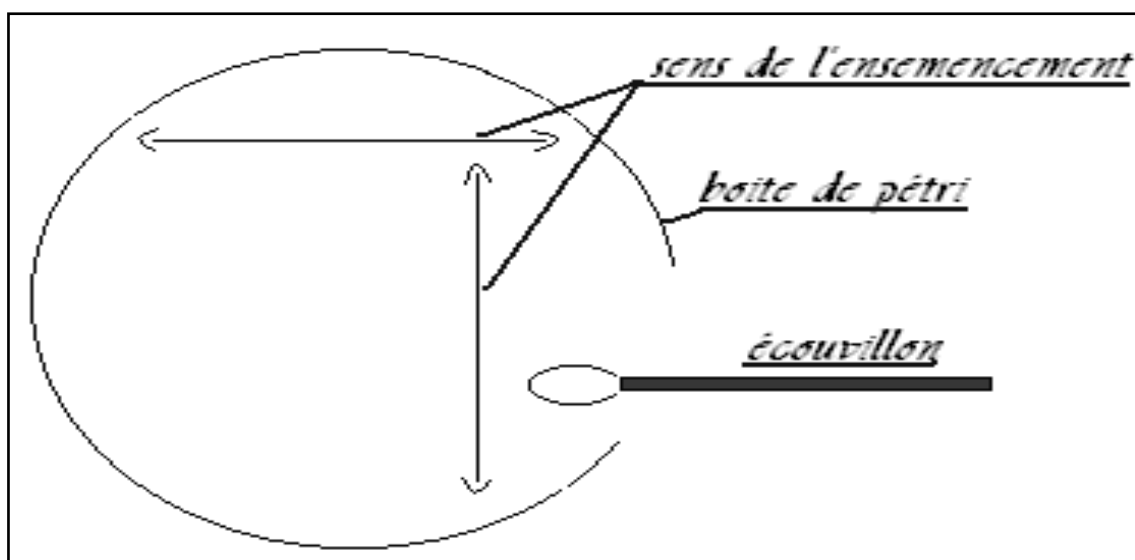


Figure 21 : Ensemencement par écouvillon (**Benzeggouta, 2005**).

L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. Les disques imprégnés de 15µl d'extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés et les disques Wattman imprégnés de DMSO (témoin négatif) (**Harrar, 2012**).

Le nombre de disques déposés par boîte est limité du fait du chevauchement des zones d'inhibition. Il est important que les diamètres des zones d'inhibition soient mesurables (**Bonnet et al., 2014**).

3.1.1.3. Incubation des boîtes de Pétri

Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C (**Harrar, 2012**). Si elles sont abandonnées à température ambiante après dépôt des disques, la pré-diffusion des antibiotiques engendrera des zones d'inhibition faussement agrandies (**Bonnet et al., 2014**).

3.1.2. Mise en évidence de l'activité antifongique

Les mêmes opérations sont effectuées avec les souches des champignons, mais dans ce cas le milieu de culture utilisé est le milieu Sabouraud. Les champignons sont activés pendant 7 jours dans des boîtes de Pétri à une température de 28°C avant le test, après incubation l'inoculum des champignons est préparé et l'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri coulés qui contiennent du Sabouraud. La lecture des antibiogrammes est faite après **72 heures d'incubation à 28°C (Harrar, 2012)**.

3.1.3. Lecture des résultats

❖ Mesure des zones d'inhibition

- La bordure de la zone d'inhibition doit être lue à l'œil nu et au niveau de la complète inhibition de la culture ; la boîte étant placée à 30 cm de l'œil.
- Lire les zones d'inhibition au dos des géloses **Muller Hinton** sur fond noir éclairé par une lumière réfléchie (**Bonnet et al., 2014**).
- Un produit est considéré actif, s'il donne un diamètre d'inhibition ≥ 15 mm.

Une fois l'antibiogramme est réalisé et les diamètres d'inhibition sont mesurés, on passe à la deuxième étape de l'étude de l'activité antimicrobienne ; il s'agit de la détermination de CMI (**Daroui-mokaddem, 2012**).

3.2. Technique en milieu liquide (méthode de dilution)

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/ml ou mg/litre). Cependant, la CMI ne représente pas toujours une valeur absolue. La « véritable » CMI est un point entre la plus basse concentration qui empêche la croissance de la bactérie et la concentration inférieure immédiate (**El Kalamouni, 2010**).

3.2.1. La dilution en bouillon

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macro dilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration (microdilution). L'utilisation de ces plaques avec un protocole documenté, y compris les précisions sur les micro-organismes de référence approprié, peut faciliter la comparaison des résultats entre analyses (El Kalamouni, 2010).

3.2.2. Détermination des CMI et CMB

Pour les concentrations minimales inhibitrices (CMI), Il s'agit de déterminer les plus petites concentrations auxquelles les extraits présentent encore une activité antibactérienne visible à l'œil nu. Des dilutions successives au demi ont permis de préparer une gamme de dilution allant de 80 à 0,0625 mg/ml pour les extraits.

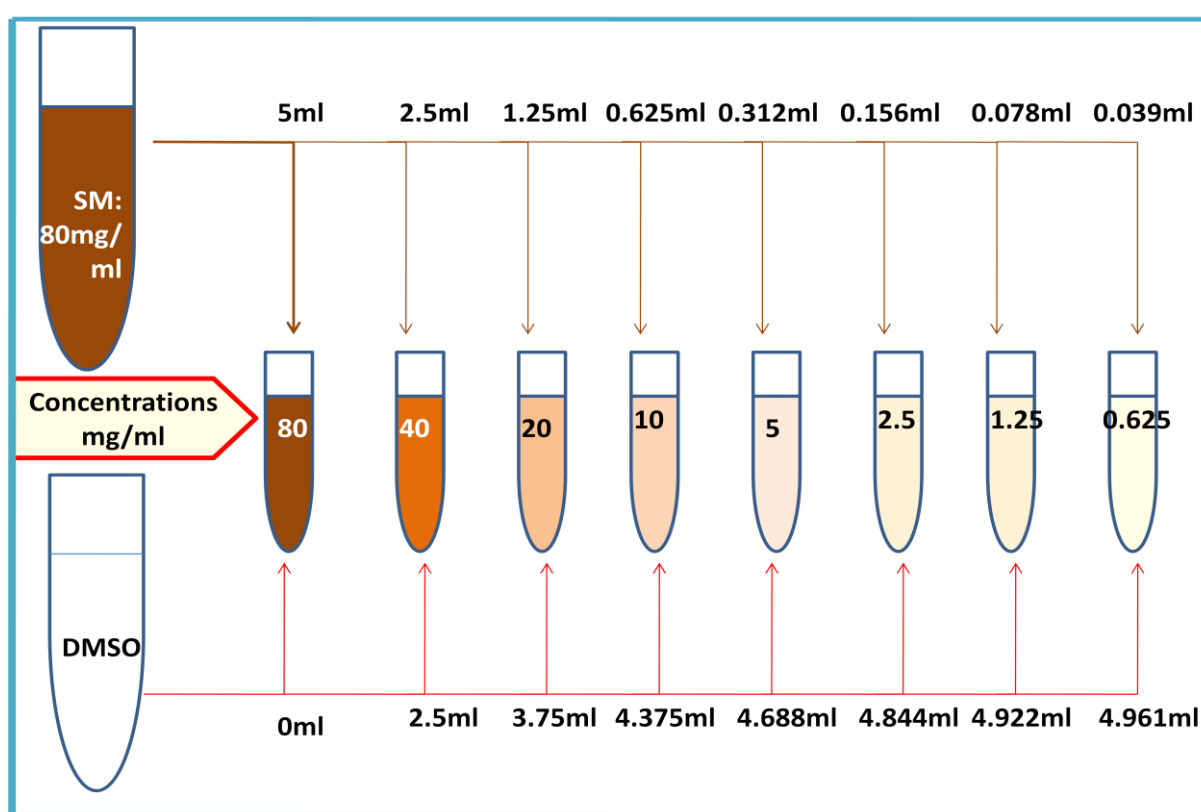


Figure 22 : Préparation des dilutions pour la détermination de la CMI.

Ensuite de chaque dilution on prélève 1ml et on la met dans les tubes contenant 2ml de bouillon nutritif puis on ajoute 1ml de l'inoculum, La suspension bactérienne doit être bien

homogénéisée, avec une opacité équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.13 à 625 nm. L'incubation est effectuée pendant 24h à 37°C (**Harrar, 2012**).

Il ne faut pas oublier de réaliser des témoins de croissance pour chaque souche et un témoin de stérilité où on met 2ml de bouillon nutritif et 1ml de DMSO dans tous les tubes et 1ml de l'inoculum juste dans les témoins de croissance.

La CMI est déterminée par la plus petite concentration ne permettant pas de pousser visible à l'œil nu. Pour déterminer la CMB, un prélèvement est effectué dans tous les tubes ne présentant pas de pousser visible, ensemencé en gélose Muller-Hinton et mis en incubation à 37° C pendant 18 heures. La CMB est déterminée par la plus petite concentration qui tue 99,99% de la population bactérienne (**Kabore et al., 1997**).

Figure 23 : Protocole de la recherche de la CMI et la CMB.

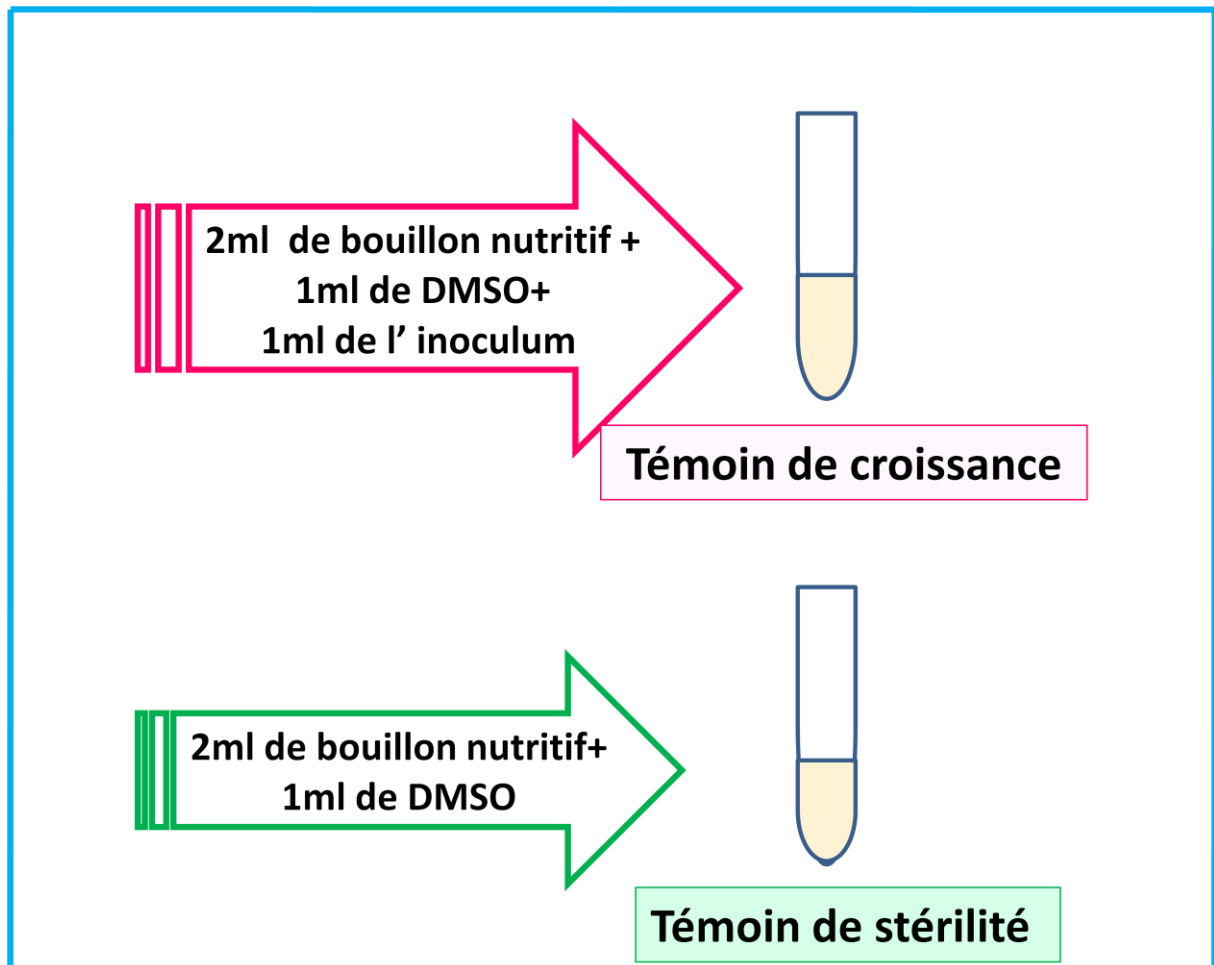


Figure 24: Témoin de croissance et de stérilité réalisé dans la détermination de la CMI.

3.3. Analyse statistique

Une analyse de la variance (Steel et Torrie, 1980) est réalisée sur les données en prenant en compte les souches bactériennes comme source de variation (effet fixe) et la dose de l'extrait (effet aléatoire) comme facteur de blocage. Le test de comparaison multiple de Tukey's est utilisé pour déterminer la moyenne qui diffère du reste du groupe. Elles sont considérées significativement différentes pour une valeur de probabilité ($P < 0,05$).

Des analyses de la variance sont réalisées par le programme MIXED, du logiciel SAS (SAS Institute, 2000).

Chapitre II : Résultats et discussion

2.1. Résultats du test préliminaire

Si les extraits doivent être soumis aux essais biologiques, la toxicité du solvant peut également être critique car même en traces, le solvant ne devrait pas empêcher le procédé biologique. L'attention devrait également être prêtée aux interactions possibles entre le solvant et les corps dissous pendant que le solvant peut réagir avec certains composés pour produire des complexes ou pour causer la décomposition, la déshydratation, ou l'isomérisation de ces composés.

Pour cela le DMSO a été testé comme solvant, les résultats montrent que le solvant est approprié (voir figure 25) et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes (Harrar, 2012).

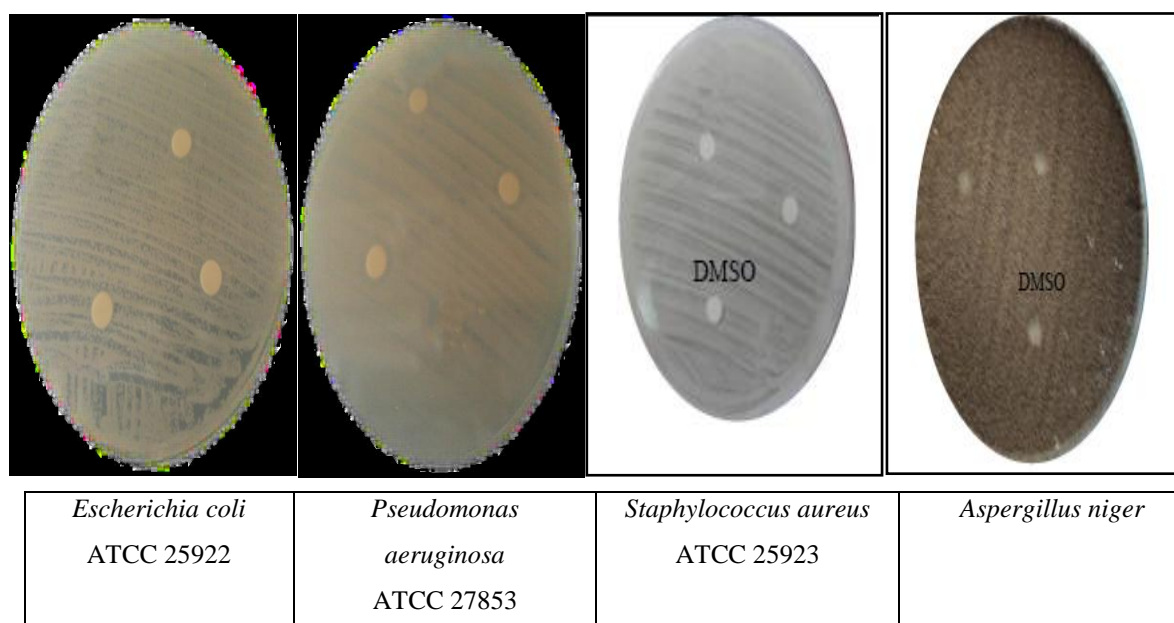


Figure 25 : Effet du DMSO sur les bactéries et les champignons étudiés (Harrar, 2012).

2.2. Effet de l'extrait d'*Onopordum acanthium*

2.2.1. Tests de sensibilité

Les résultats présentés dans la figure 26 et consignés dans le tableau 3 montrent que l'extrait « Ether de pétrole » de la plante *Onopordum acanthium* n'a pas eu une bonne activité inhibitrice aux différentes concentrations testées sur les souches bactériennes utilisées avec des zones d'inhibition ne dépassant pas un diamètre de 8.66 mm observé contre *Pseudomonas aeruginosa* à la concentration de 200 mg/ml.

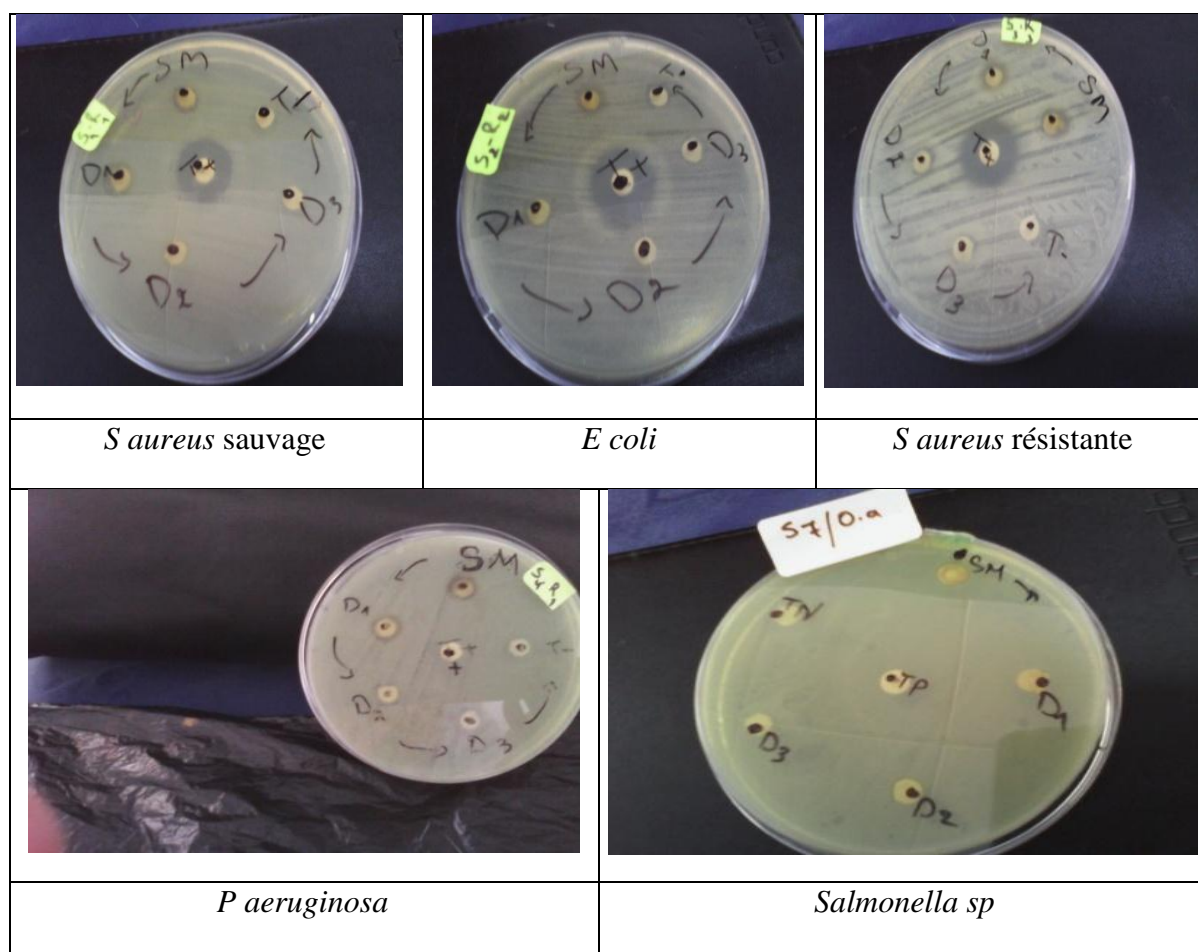


Figure 26 : Zones d’inhibition d’extrait appartenant à la plante *Onopordum acanthium*.

Tableau 3: Activité antibactérienne de l’extrait de la plante *Onopordum acanthium* (méthode de diffusion sur gélose), exprimée en diamètre d’inhibition (mm).

Concentrations mg/ml	Diamètre des zones d’inhibition en (mm)			
	SM 200mg/ml	D1 100mg/ml	D2 50mg/ml	D3 25mg/ml
Bactéries				
<i>Staphylococcus aureus sauvage</i>	2.667±2.667 ^b	2.667±2.667 ^a	0±0 ^a	2.333±2.333 ^a
<i>Escherichia coli</i>	7.667±0.333 ^{ab}	7±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a
<i>Staphylococcus aureus résistante</i>	8±0.577 ^{ab}	7.333±0.333 ^a	2.333±2.333 ^a	0±0 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8.667±0.333 ^a	7±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a
<i>Salmonella ssp</i>	8±0 ^{ab}	4.667±2.333 ^a	4.333±2.166 ^a	4.333±2.166 ^a
SEM	0.625	0.647	0.603	0.603

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n= 3) avec ± l'écartype. SM : Solution Mère ; D1 : Dose 1, D2 : Dose 2 ; D3 : Dose 3. ^{a,b,c} moyennes dans la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement distincts (P < 0,05). SEM : Standard Erreur Moyenne.

2.2.2. Effet dose de l'extrait d'*Onopordum acanthium*

Une comparaison de l'effet inhibiteur des différentes concentrations de l'extrait d'*Onopordum acanthium* est montrée dans le tableau 4. L'analyse statistique confirme que la différence de l'effet des différentes doses utilisées est significativement inférieure ($p < 0.05$) avec le témoin positif (Antibiotique), néanmoins certaines doses montrent des effets légèrement supérieures avec le témoin négatif. Les doses de 200mg/ml et de 100mg/ml donnent des diamètres significativement supérieurs ($p < 0.05$) au témoin négatif.

Tableau 4 : Effet dose de l'extrait de la phase éther de pétrole de la plante *Onopordum acanthium* (méthode de diffusion sur gélose), exprimée en diamètre d'inhibition (mm) (Moyenne \pm écart type).

Bactérie Concentration	Diamètres des zones d'inhibition en mm				
	<i>Staphylococcus aureus</i> sauvage	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> résistante	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella sp</i>
200mg/ml	2.667 \pm 2.667 ^b	7.667 \pm 0.333 ^b	8.0 \pm 0.577 ^b	8.667 \pm 0.333 ^b	8.0 \pm 0 ^b
100mg/ml	2.667 \pm 2.667 ^b	7.0 \pm 0 ^c	7.333 \pm 0.333 ^b	7.0 \pm 0 ^c	4.667 \pm 2.333 ^{bc}
50mg/ml	0/0 ^b	0/0 ^d	2.333 \pm 2.333 ^c	0/0 ^d	4.333 \pm 2.167 ^{bc}
25mg/ml	2.333 \pm 2.333 ^b	0/0 ^d	0/0 ^d	0/0 ^d	4.333 \pm 2.167 ^{bc}
T positif	17 \pm 0 ^a	19 \pm 0 ^a	18 \pm 0 ^a	43 \pm 0 ^a	30 \pm 0 ^a
T négatif	0 \pm 0 ^b	0 \pm 0 ^d	0 \pm 0 ^c	0 \pm 0 ^d	0 \pm 0 ^c
SEM	1.555	1.657	1.556	3.704	2.453

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais ($n = 3$) avec \pm l'écart type.

^{a,b,c} moyennes dans la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement distincts ($P < 0,05$).

SEM : Standard Erreur Moyenne.

2.3. Effet de l'extrait de *Spartium junceum*

2.3.1. Test de sensibilité

La sensibilité des souches bactériennes à différentes doses de l'extrait « Ether pétrole » de *Spartium junceum* est montrée dans la figure 27 et résumée dans le tableau 5.

L'activité antibactérienne de cet extrait est testée vis-à-vis de cinq souches bactériennes via la méthode de diffusion sur l'agar. Les résultats révèlent que l'extrait « Ether pétrole » de *Spartium junceum* exerce un effet antibactérien considérable sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sauvage avec des zones d'inhibition de 20 mm et 17 mm, obtenu avec la dose de 200mg/ml, respectivement (tableau5). Cet effet demeure significativement supérieur ($p < 0.05$) par rapport à celui de la streptomycine, utilisée comme antibiotique de référence.

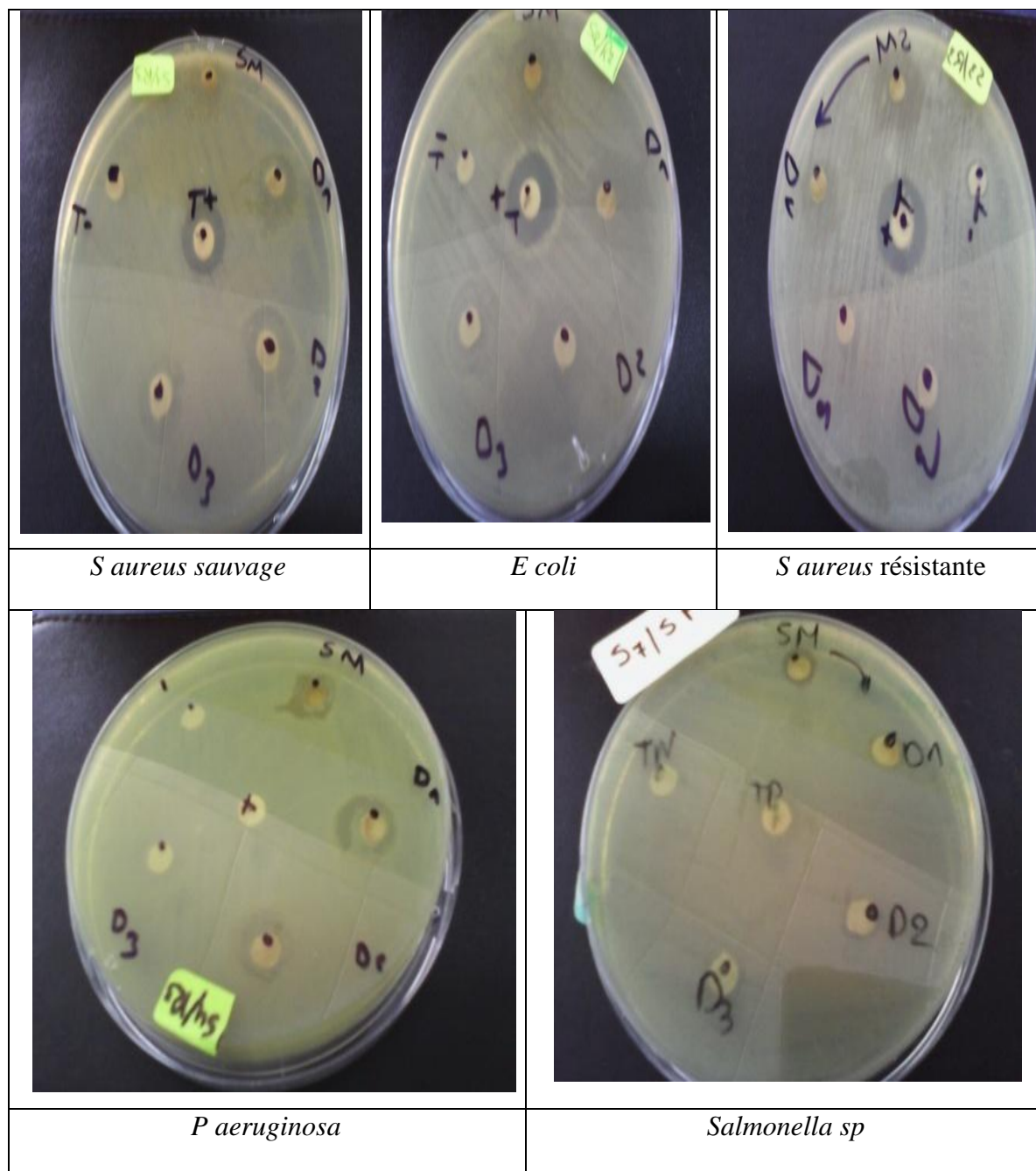


Figure 27: Zones d'inhibition d'extrait appartenant à la plante *Spartium junceum*.

Tableau 5 : Activité antibactérienne de l'extrait de la plante *Spartium junceum*.

Concentrations mg/ml Bactéries	Diamètre des zones d'inhibition en (mm)			
	SM 200mg/ml	D1 100mg/ml	D2 50mg/ml	D3 25mg/ml
<i>Staphylococcus aureus sauvage</i>	17±1.527 ^a	13±0 ^a	12±0.577 ^a	9±1.527 ^{ab}
<i>Escherichia coli</i>	20±0 ^a	12.667±0.333 ^a	11.667±0.333 ^{ab}	11.667±0.333 ^a
<i>Staphylococcus aureus résistante</i>	8.667±0.667 ^b	9±0.577 ^b	7.667±0.333 ^c	4.667±2.333 ^{cb}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10±1 ^b	7.667±0.333 ^b	7.333±0.333 ^{abc}	7±0 ^{ab}
<i>Salmonella ssp</i>	7.333±0.333 ^b	7.667±0.333 ^b	7.333±0.333 ^c	7±0 ^{ab}
SEM	1.222	0.597	0.511	0.964

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n= 3) avec ± l'écartype.

SM : Solution Mère ; D1 : Dose 1, D2 : Dose 2 ; D3 : Dose 3. ^{a, b, c} moyennes dans la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement distincts (P < 0,05). SEM : Standard Erreur Moyenne.

2.3.2. Effet dose de l'extrait de *Spartium junceum*

La comparaison de l'effet des doses utilisées est notée dans le tableau 6. Il est remarquable de souligner que toutes les doses utilisées de l'extrait « Ether pétrole » de *Spartium junceum* donnent un effet antibactérien obtenus par des zones d'inhibition significativement supérieures au témoin négatif (p<0.05).

Tableau 6 : Effet dose de l'extrait de la phase éther de pétrole de la plante *Spartium junceum* (méthode de diffusion sur gélose), exprimée en diamètre d'inhibition (mm) (Moyenne ±écart type).

Bactérie Concentration	Diamètres des zones d'inhibition en mm				
	<i>Staphylococcus aureus sauvage</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus résistante</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella ssp</i>
200mg/ml	17.0±1.528 ^a	20.0±0 ^a	8.667±0.667 ^b	10.0±1.0 ^b	7.333±0.333 ^b
100mg/ml	13.0±0 ^{ab}	12.667±0.333 ^c	9.0±0.577 ^b	9.333±1.333 ^b	7.667±0.333 ^b
50mg/ml	12.0±0.577 ^b	11.667±0.333 ^c	7.667±0.333 ^c	9.0±1.528 ^b	7.333±0.333 ^b
25mg/ml	9.0±1.528 ^b	11.667±0.333 ^c	4.667±0.333 ^{bc}	7.0±0 ^b	7.0±0 ^b
T positif	13.0±0 ^{ab}	16.0±0 ^b	16.0±0 ^a	43.0±0 ^a	30.0±0 ^a
T N	0±0 ^c	0±0 ^d	0±0 ^c	0±0 ^c	0±0 ^c
SEM	1.326	1.486	1.223	3.363	2.278

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n= 3) avec ± l'écartype, ^{a, b, c} moyennes dans la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement distincts (P < 0,05). TN : témoin négatif. SEM : Standard Erreur Moyenne.

2.4. Activité antifongique

L'extrait « Ether de pétrole » des plantes utilisées dans la présente étude n'a montré aucun effet sur les deux champignons utilisés, en l'occurrence *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* (voir figure 28).

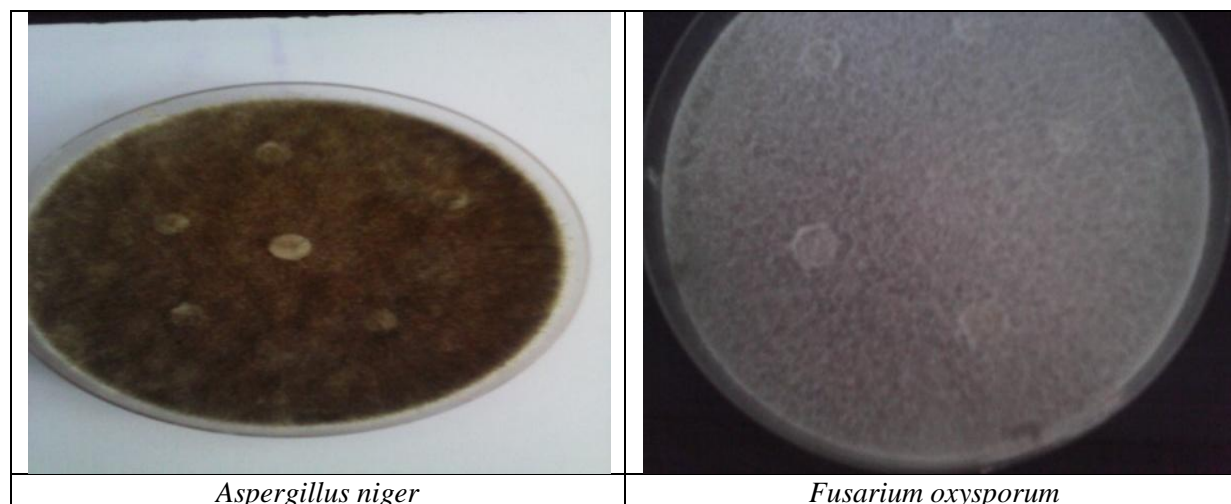


Figure 28 : Absence d'activité antifongique des extraits.

2.5. Détermination des paramètres antibactériens (CMI et CMB)

2.5.1. Extrait de *Spartium junceum*

Il a été observé une diminution progressive de l'intensité du trouble induit par la croissance des bactéries au fur et à mesure que la concentration de l'extrait végétal augmentait dans les tubes expérimentaux.

Toutes les souches utilisées sont été plus sensibles avec des valeurs de CMI et CMB égales à 40 mg/ml, sauf pour la souche *Salmonella ssp* qui a donné une CMB de 80 mg/ml (Tableaux 7 et 8).

Tableau 7 : Détermination de la CMI de l'extrait appartenant à la plante *Spartium junceum*

Concentrations mg/ml	80	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625
Bactéries								
<i>Staphylococcus aureus</i> sauvage	-	-CMI	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	-	- CMI	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> résistante	-	- CMI	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	- CMI	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella ssp</i>	-	- CMI	+	+	+	+	+	+

(-) Absence de troubles. (+) Présence de troubles.

Tableau 8 : Détermination de la CMB de l'extrait appartenant à la plante *Spartium junceum*.

Bactéries	CMB mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> sauvage	40
<i>Escherichia coli</i>	40
<i>Staphylococcus aureus</i> résistante	40
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
<i>Salmonella ssp</i>	80

L'interprétation de ce résultat est résumée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 9 : Interprétation des résultats de CMI et CMB de l'extrait de *Spartium junceum*.

Bactéries	Origine	CMI mg/ml	CMB mg/ml	CMB/CMI	Interprétation
<i>Staphylococcus aureus</i> sauvage	Référence	40	40	1	Bactéricide
<i>Escherichia coli</i>	Référence	40	40	1	Bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> résistante	Référence	40	40	1	Bactéricide
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Référence	40	40	1	Bactéricide
<i>Salmonella sp</i>	Référence	40	80	2	Bactériostatique

2.5.2. Extrait d'*Onopordum acanthium*

Les valeurs de CMI obtenues avec l'extrait d'*Onopordum acanthium* sont montrées dans le tableau 10. Nous notons des concentrations égales à 20 mg/ml pour les souches *Staphylococcus aureus* sauvage, *Escherichia coli* et *Salmonella ssp* par contre des CMI de 40 mg/ml sont obtenus pour *Staphylococcus aureus* résistante et *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 10: Détermination de la CMI de l'extrait appartenant à la plante *Onopordum acanthium*

Concentrations mg/ml	80	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625
Bactéries								
<i>Staphylococcus aureus</i> sauvage	-	-	- CMI	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	- CMI	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> résistante	-	- CMI	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	- CMI	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella ssp</i>	-	-	- CMI	+	+	+	+	+

(-) Absence de troubles. (+) Présence de troubles.

Quant aux valeurs de la CMB des difficultés ont été rencontrées pour la détermination exacte de ces concentrations. Il n'en demeure que nos résultats des différentes CMB sont présentés dans le tableau ci dessous (Tableau 11).

Tableau 11 : Détermination de CMB de l'extrait appartenant à la plante *Onopordum acanthium*.

Bactéries	CMB mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> sauvage	20
<i>Escherichia coli</i>	>80
<i>Staphylococcus aureus</i> résistante	>80
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
<i>Salmonella ssp</i>	>80

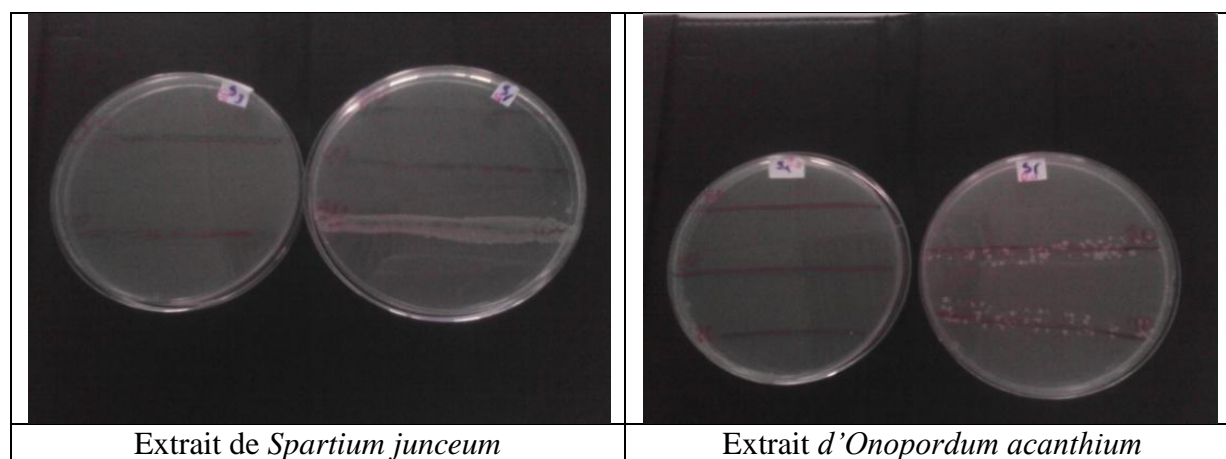


Figure 29 : Détermination de la CMB.

Conclusion

De cette étude qui avait pour but d'évaluer *in-vitro* l'activité antibactérienne des extraits Ether Pétrole des tiges de la plante *Spartium junceum* et des feuilles *d'Onopordum acanthium* sur des bactéries de référence, résistantes, il ressort que toutes les souches étudiées ont été sensibles à l'extrait de *Spartium junceum*.

Néanmoins la détermination de la sensibilité des souches a l'extraits de *Spartium junceum* dépend des concentrations des extraits. La concentration de 200mg/ml a donné des résultats supérieurs significativement ($p < 0.05$) aux témoins positifs, l'antibiotique utilisé en l'occurrence la streptomycine. L'extrait de *Spartium junceum* a exercé un pouvoir bactéricide sur les différentes souches à l'exception des souches de *Salmonella sp* pour laquelle il a eu un pouvoir bactériostatique;

La sensibilité des différentes souches à l'extrait éther pétrole des tiges de *Spartium junceum* revêt une grande importance dans le traitement des pathologies qui leur sont associées car ces souches présentent des résistances élevées vis-à-vis des antibiotiques utilisés en pratique courante. Cette étude permet de justifier le bien fondé des vertus antimicrobiennes accordées à cette plante.

Pour ce qui concerne l'extrait éther pétrole des feuilles d'*Onopordum acanthium*, les résultats obtenus sont moins expressifs que pour la première plante. Il n'en demeure que nous ne pouvons conclure quant à l'inadéquation de son utilisation.

Pour conclure nous recommandons que d'autres tests soient réalisés pour les deux extraits pour confirmer ces résultats sur une panoplie de souches multi résistantes pour avoir une idée plus précise du spectre d'acuité de l'extrait de la plante *Spartium junceum*.

Références bibliographiques

1. **Agban A., Apeti Gbogbo K., Kpemissi Amana E., Tegueni K., Batawila K., Koumaglo K., Akpagana K. (2013).** *Evaluation des activités Antimicrobiennes de Tridax procumbens (Asteraceae), Jatropha multifida (Euphorbiaceae) et de Chromolaena odorata (Asteraceae).* European Scientific Journal December 2013 edition vol.9, No.36 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.13, p 1.2.
2. **Akroum S. (2006).** Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Magister : *Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de Rosmarinus officinalis et Vicia faba L.* 91, p8-21.
3. **Akroum S. (2011).** Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Doctorat en sciences : *Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels.* 112, p6-23.
4. **Bassole H.N., Kabore Z., Traoré A. S. (2001).** *Etude des profils bactériostatiques et bactéricides d'extraits végétaux vis-à-vis de germes pathogènes impliqués dans la contamination des denrées alimentaires d'origine animale.* Pharm. Méd. Trad. Ali" 20GI, Vol. II, p113-122.
5. **Bekkouche A. (2007).** Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Magister : *Etude Ethnobotanique et Chimique d'une Plante Médicinale Xanthium strumarium.* 73, p 12
6. **Belloum Z. (2007).** Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme Magister : *Etude phytochimique des plantes médicinales Algériennes, cas de l'espèce Inula crithmoides L.* 199, p27-83.
7. **Benbrinis S. (2012).** Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Magister : *Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de Santolinachamae cyparissus.* 73, p 33-34.
8. **Benzeggouta N. (2005).** Thèse Présentée en vue de l'Obtention du Diplôme de Magister en Pharmacochimie : *Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments.* 110, p95-98.
9. **Bonnet R., Bru JP., Caron F., (2014).** Comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie recommandation 2014. 115, p6-11.
10. **Boudjellal K. (2009).** Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Magister : *Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'Elaeagnus angustifolia L.* 51, p10-20.
11. **Boudjouref M. (2011).** Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Magister : *Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L.* 64, p23-33.52, 53.

12. **Bourgaud. F (2013).** *Plantes à parfum, aromatiques et médicinales : Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; exemple de l'apport des sciences cognitives à la production/valorisation Des métabolites secondaires d'intérêt.* J. Unité Mixte de Recherche 1121 Université de Lorraine – INRA, Nancy-Colmar. 5, p1.
13. **Cavers P., Qaderi M., Threadgill P., Stee M. (2014).** *The Biology of Canadian Weeds. 147. Onopordum acanthium L.* Can. J. Plant Sci. 2011.91:739-758.20, p 3.4.
14. **Daroui-mokaddem H. (2012).** Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT : *Etude phytochimique et biologique des espèces Eucalyptus globulus (Myrtaceae), Smyrniolum olusatrum (Apiaceae), Asteriscus maritimus et Chrysanthemum trifurcatum (Asteraceae).* 197, p15, 60.
15. **Dehak K, (2013).** Thèse présentée pour obtenir le de Doctorat : *Analyse physicochimique et réactivité des espèces moléculaire.*
16. **Devdutt C. (2011).** *Sesquiterpene lactones: Structural diversity and their biological activities.* Research Signpost 37/661 (2), Fort P.O. rivandrum-695 023Kerala, India.22, 10-13.
17. **Diatta C., Gueye M., Akpo L E. (2013).** *Les plantes médicinales utilisées contre les dermatoses dans la pharmacopée Baïnounk de Djibonker, région de Ziguinchor (Sénégal).* Journal of Applied Biosciences 70:5599– 5607 ISSN 1997–5902. 9, p 2.
18. **Djabali S. (2012).** Mémoire Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister : *Effet des polyphénols sur la résistance à l'infestation fongique dans le grain d'haricot sec.* 81, P31-33.
19. **El Kalamouni C. (2010).** Thèse en vue de l'obtention du doctorat : *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées.* 227, p 70.72.
20. **fiche eFlore de Spartium junceum. (2011).** Projet de numérisation de la flore de L'Abbé Coste par le réseau Tela Botanica : www.tela-botanica.org. 7, p1.
21. **Frédéric. (2013).** *Onopordum acanthium L. (Onopordon fausse acanthe).* Fiche de plante Publiée par l'association Préservons la nature : preservons-la-nature.fr.
22. **Gravot A. (2009).** Support de cours sur le métabolisme secondaire d'Antoine Gravot (Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV). *Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux.* Université de Rennes 1 – L2 UE PHR – Année universitaire 2008/2009.IGEPP (Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes). 15, p5-7.

23. **Hamimed S. (2009)**.Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Magister *Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'Anacyclus pyrethrum L.*136, p32.
24. **Harrar A. (2012)**. Mémoire Présenté Pour obtenir le diplôme de Magister : *Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L.*67. p 17.30.
25. **Hordé P. (2014)**. *Alcaloïde – définition. issu de Sante-Médecine (sante-medecine.commentcamarche.net)*.
26. **Jay-Allemand C. (2011)**. *Biomolécules d'origine végétale d'intérêts industriels Les polyphénols.*34, p14.
27. **Kabore Z.I., Millogo K. H. (1997)**. *Etude antibactérienne in vitro d'extraits alcaloïdiques de Holarrhena floribunda, vis-à-vis d'Escherichia coli enteropathogène, sérotype 0127. Pharm. Méd. Trad. Afr. 1997, Vol. 9, pp. 17-23. 7, p4.*
28. **Kebieche M. (2009)**.Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Doctorat en sciences : *Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante Ranunculus repens L : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine.*124, p15-22.
29. **Kheyar N., Meridja D., Belhamel K. (2014)**. *Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'Inula viscosa, Salvia officinalis et Laurus nobilis de la région de Bejaia. Algerian Journal of Natural Products 2 : 1(2014) 18-26. 9, p 1.2.*
30. **Krief S. (2004)**. Thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur : *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées.*343, p23, 24, 201-205.
31. **Latifa CHEBIL. (2006)**. Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de Doctorat De L'institut National Polytechnique De Lorraine. *Acylation des flavonoïdes par les lipases de Candida antarctica et de Pseudomonas cepacia : études cinétique, structurale et conformationnelle.* .195 p 18.
32. **Makhloufi A. (2010)**. Thèse présentée pour obtenir le grade de Doctorat D'état en Biologie : *Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (Matricaria pubescens (Desf.) Rosmarinus officinalis l) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru.* 78, p 4-7.
33. **Malecky M. (2008)**.Thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur : *Métabolisme Des Terpénoïdes Chez Les Caprins.* 201, p 30,34.

34. **Mauro N M, (2006).**Thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur : *Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine.*181, 15-17.
35. **Mekkiou R. (2005).**Thèse présentée pour obtenir d'un diplôme de Doctorat : *Recherche et Détermination Structurale de Métabolites Secondaires d'espèces du Genre Genista (Fabaceae) : G. Saharæ, G. ferox.*200, p12-14.
36. **Mohammedi Z. (2006).** Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Magister : *Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen.* 103, p 13.
37. **Morel S. (2012).**Thèse de doctorat : *Etude phytochimique et évaluation biologique de Derris ferruginea Benth. (Fabaceae).*246, p56-61.
38. **Mpondo Mpondo E., Yinyang J., Dibong S D. (2015).**Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences* 85:7804– 7823 ISSN 1997–5902.20, 17.
39. **Muanda F. (2010).** Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur : *Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques.*239, p15, 16,71-74.
40. **N'guessan K., Kadja B., Zirihi N., Traoré D., Aké-Assi L. (2009).***Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire).*Sciences & Nature Vol. 6 N°1 : 1 - 15 (2009).15, p 2.11.
41. **Nkhili E. (2009).** Mémoire présenté pour l'obtention de diplôme de Doctorat : *Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant.* . 228, p47.
42. **Okusa Ndjolo P. (2012).** Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Doctorat en Sciences : *Etude phytochimique et activité antimicrobienne directe et indirecte de Cordiagilletii De Wild (Boraginaceae).*163, p45, 46, 157-159.
43. **Parul L., Deepak K R. (2007).** *Quercetin: A Versatile Flavonoid.* Internet Journal of Medical Update, Vol. 2, No. 2, Jul-Dec 2007.16, p2.
44. **Rira M. (2006).** Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Magister : *Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins.*80, p14-25.
45. **Schuster M., Prather T S. (2003).** *Scotch Thistle Onopordum acanthium.* A Pacific Northwest Extension Publication University of Idaho Oregon State University Washington State University. 4, p 1.2.

- 46. Tianming Z. (2014).** Thèse en vue de l'obtention de Doctorat : *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de Plantes aromatiques et médicinales oubliées ou sous-utilisées De Midi-Pyrénées (France) et Chongqing (chine)*.153, p 37-40.
- 47. Tim Cushnie T.P. Andrew J. Lamb. (2005).** *Antimicrobial activity of flavonoids*. International Journal of Antimicrobial Agents 26 (2005) 343–356. 14, p5-14.
- 48. Vaudreuil C. (2012).** Thèse présentée pour le diplôme d'état de Docteur en pharmacie. *A propos de deux registres nécessaires au bon usage des plantes médicinales de Martinique : la Pharmacopée végétale martiniquaise et un vademécum de phytothérapie*.102, p 28, 29, 63,65.
- 49. Yakhlef G. (2010).** Thèse présentée pour l'obtention d'un diplôme de Magister : *Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de Thymus vulgaris L. et Laurus nobilis L.*69, p5- 43.
- 50. Zoughlache S. (2009).** Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Magister : *Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de Zizyphus lotus L.*56, p8-14.

Annexes

Annexe I

❖ Composition du milieu Mueller-Hinton :

Extrait de viande de bœuf : 2.0g.

Peptone de caséine : 17.5g.

Amidon de maïs : 1.5g.

Agar : 17.0g.

pH : 7.4.

❖ Composition du milieu Sabouraud :

Peptone : 10,0 g.

Glucose massé : 20,0 g.

Agar : 15,0 g.

pH = 6,0. (Harrar, 2012).

Annexe II

❖ Etalon Mc Farland

1. Préparation de l'acide sulfurique à 1% v/v (H_2SO_4) :

- Dans une fiole jaugée de 100ml, à l'aide d'une pipette, verser 90ml de l'eau distillée stérile puis ajouter 1ml de l'acide sulfurique (H_2SO_4).

- Compléter à 100ml avec l'eau distillée stérile.

2. Préparation de Chlorure de Baryum à 1% p/v (BaCl_2) :

- Peser 1g de Chlorure de Baryum déshydraté ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) et le mettre dans une fiole jaugée de 100ml, puis verser 50ml de l'eau distillée stérile et bien agiter.

- Compléter à 100ml avec l'eau distillée et bien homogénéiser.

3. Préparation de la solution 0.5 de Mc Farland

- En versant 0.6 ml de la solution de BaCl_2 déshydraté à 1% (10g/l), dans une éprouvette de 100ml, compléter à 100ml du H_2SO_4 à 1% (10ml/l). Ainsi préparé il doit avoir une DO de 0.08 à 0.1 lu à 625nm.

- Appliquer la solution en volumes de 10ml, dans des tubes identiques à ceux qui serviront à la préparation des inocula.

- Sceller ces tubes de façon à éviter toute évaporation (parafilm, ruban adhésif...).

- Repérer le niveau de liquide à l'aide d'un marqueur, et contrôler régulièrement en prenant la densité optique.

- Conserver les tubes à la température ambiante et à l'abri de lumière (papier aluminium).

- Homogénéiser le tube étalon avant de le comparer à l'inoculum préparé : inoculum et étalon doivent avoir la même turbidité lorsqu'ils sont examinés sur un fond rayé.

ملخص

فشل العلاج وتكاليفه العالية الناجمة عن الالتهابات البكتيرية المقاومة دعا إلى إيجاد علاجات بديلة أخرى. لهذا قمنا بهذه الدراسة من أجل تقييم النشاط المضاد للبكتيريا باستخراج أثير النفط من سيقان وأوراق (*Spartium junceum* , *Onopordum acanthium*) بواسطة السلاطات المقاومة المراجعة. أساليب نشر القرص في الوسط الجيلوزي والوسط السائل مستخدمة لاختبار حساسية وتحديد التركيز الأدنى المثبط (MIC) و التركيز الأدنى القاتل (MBC). وأجريت هذه الاختبارات المختلفة على خمسة سلالات بكتيرية: *Staphylococcus aureus* البرية، *E.coli*، المقاومة *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa* و *Salmonella sp* ونوعين من الفطريات *Aspergillus niger* و *Fusarium oxysporum* حساسية السلالات المستخدمة مع مستخلص سيقان *Spartium junceum* أعطى قيمة عالية معتبرة (P >0.05) مع سترابنومييسين (Streptomycine)، وتستخدم لمضاد حيوي. الحد الأدنى للتركيز المثبط و الحد الأدنى للتركيز الهيد للجراثيم المستخرج من مستخلص سيقان *Spartium junceum* 40 ملغ/مل. لوحظت أقل قيمة ل CMI و CMB عند المكورات العنقودية البرية *Staphylococcus aureus* ، *E coli* ، *Staphylococcus aureus* المقاومة و *P aeruginosa* في حين أن أكبر قيمة لهذه المعايير تم الحصول عليها عند *Salmonella sp*. وبصرف النظر عن *Salmonella sp*، هذا المستخلص يمارس نشاطا مبيدا للجراثيم مع جميع السلالات المستخدمة. أما بالنسبة للنتائج التي تم الحصول عليها مع مستخلص *Onopordum acanthium* هي أقل وضوحا وتستحق إجراء مزيد من التحقيقات. لهذا قد تم تبرير استخدام مستخلص أثير النفط من (*junceum Spartium*) لعلاج الالتهابات والأمراض المختلفة. **الكلمات المفتاحية:** *Spartium junceum*، *Onopordum acanthium*، النشاط ضد البكتيري، مستخلص أثير النفط.

Summary

Treatment failures and costs of higher and higher treatment of infections due to resistant bacteria called to find other alternative treatments. This study is initiated in order to evaluate the antibacterial activity of petroleum ether extract of the stems and leaves of *Spartium junceum* and *Onopordum acanthium* on resistant strains references. The methods of disk diffusion and liquid medium are used for the sensitivity test and the determination of MIC and MBC. The various tests were performed on the five bacterial strains (*Staphylococcus aureus* wild, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* resistant, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella sp*) and two fungi *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum*.

Susceptibility used to extract stems *Spartium junceum* gave a significantly higher value (p <0.05) with Streptomycin, used as an antibiotic.

The minimum inhibitory concentrations and minimum bactericidal concentration of the extract of stems of *Spartium junceum* are 40mg / ml. The lower value of CMI and CMB is observed in wild *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* resistant and *Pseudomonas aeruginosa* however the greatest value of these parameters was obtained on *Salmonella sp*. Apart from *Salmonella sp* this extract exerted a bactericidal activity on all strains used.

As for the results obtained with the extract of *Onopordum Acanthium* are less pronounced and merit further investigations.

This might justify the use of the petroleum ether extract of *Spartium junceum* in treating various infections.

Keywords: *Spartium junceum*, *Onopordum acanthium*, antibacterial activity, petroleum ether extract.

Nom: BOUZEKRI, REMADNIA

Prénom: Amal, Meriem

Diplôme : Master

Option: Microbiologie

Thème: Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de la phase éther de pétrole des plantes *Spartium junceum* et *Onopordum acanthium*

Résumé

Les échecs thérapeutiques et les coûts de plus en plus élevés des traitements des infections dues aux bactéries résistantes appellent à trouver d'autres alternatives de soins. La présente étude est initiée dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait éther pétrole des tiges et des feuilles de *Spartium junceum* et *Onopordum acanthium* sur des souches résistantes de références. Les méthodes de la diffusion en milieu gélosé et en milieu liquide sont utilisées pour le test de sensibilité et la détermination de la CMI et de la CMB. Les différents tests ont été effectués sur cinq souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* sauvage, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* résistante, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella ssp*) et deux champignons en l'occurrence *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum*.

La sensibilité des souches utilisées à l'extrait des tiges de *Spartium junceum* a donné un résultat supérieur significativement ($p < 0.05$) à la Streptomycine, utilisée comme antibiotique.

Les concentrations minimales inhibitrices et la concentration minimale bactéricide de l'extrait des tiges de *Spartium junceum* est de 40mg/ml. La plus faible valeur de CMI et de CMB est observée chez *Staphylococcus aureus* sauvage, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* résistante et *Pseudomonas aeruginosa* tandis que la plus grande valeur de ces mêmes paramètres a été obtenue sur *Salmonella ssp*. Mis à part *Salmonella ssp* cet extrait a exercé une activité bactéricide sur toutes les souches utilisées.

Quant aux résultats obtenus avec l'extrait d'*Onopordum acanthium* sont moins prononcés et mériteraient des investigations plus poussées.

Ceci pourrait justifier l'utilisation de l'extrait éther pétrole de *Spartium junceum* dans le traitement de diverses infections.

Mots clés: *Spartium junceum*, *Onopordum acanthium*, activité antibactérienne, l'extrait éther pétrole.

Encadreur : Mr. BOUAZZA Lyas MCB Université Abbes Laghrour –Khenchela

Soutenu le: 13/Juin/2015.