

REPULIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABBAS LAGHROUR \*KHENCHELA\*  
FACULTE DE SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

## MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master académique en **Biologie**

**Option:** Biotechnologie et amélioration des plantes

**Thème:**

**Etude de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes  
médicinales (*Hertia cheirifolia* et *Santolina africana* Jord. et Four.)**

Présenté par: DJRIDI Afafe et ABANA Samia

Soutenu le 14/ 10/ 2014

Devant la commission d'examen

Président	KADI Kenza	M.C. A	Université Abbès Laghrou <i>*Khenchela*</i>
Rapporteur	ZERAIB Azzeddine	M. A. A	Université Abbès Laghrou <i>*Khenchela*</i>
Examineur	MAZOUZ Lakhdar	M. A. A	Université Abbès Laghrou <i>*Khenchela*</i>

2013-2014



}} اللهم إني أعوذ بك من علم لا ينفع ومن قلب لا يخشع ومن  
عين لا تدمع ومن نفس لا تشبع ومن دعوة لا تستجب }}  
}} اللهم أنتي من الحكمة التي أتيتها فقد أوتي خيرا كثيرا }}  
اللهم لا تدعني أصاب بالغرور إذا نجحت ولا باليأس إذا فشلت  
وذكرني أن الفشل هو الخطوة التي تسبق النجاح }}  
}} اللهم ساعدني أن أقول كلمة الحق في وجه الأعداء ولا أقول  
كلمة الباطل لأكسب الأقوياء }}  
}} اللهم إذا أعطيتني نجاها فلا تفقدني تواضعي وإذا أعطيتني  
تواضعا فلا تفقدني كرامتي واعتزازي وصلى الله وسلم وبارك على  
سيدنا محمد وآله وصحبه أجمعين ومن تبعهم بإحسان إلى يوم  
الدين }}

}} أمين }}

# *Remerciements*

*A l'issu de ce modeste travail, nous tenons à remercier tout d'abord nos bon Dieu, tout puissant, de nous avoir procuré patience, volonté et pour son aide miséricordieuse durant tout notre vie et nos années d'étude.*

*Egalement, il nous est particulièrement agréable de remercier vivement :*

*L'encadreur : Mme. Kadi Kenza pour avoir accepté de nous encadrer et de diriger ce travail d'une manière exemplaire et pour le temps qu'il nous a consacré.*

*Mme. Dib Dounia, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Mme.Hamli Sofia qui a bien voulu examiner notre travail.*

*Nous tenons à remercier aussi :*

*Toutes les personnes et les ingénieures de laboratoire de l'université Abbes Laghrour-Khenchela*

*Ainsi que toutes les personnes qui nous ont procuré main forte pendant les moments difficiles.*

*Yassine et Zouhair*

# *Dédicace*

*Je loue dieu tout puissant qui me à donnée*

*Force et courage pour achever ce travail*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Ceux que personne ne peut compenser les sacrifices*

*Qu'ils ont consentis pour mon éducation et mon bien être :*

*Mes très chers parents*

*Mon frère : khalil*

*Mes soeur : Ahlem, selma, houria, Zina*

*Et alkatkouta : Hadil*

*A mon encadreur : Mme. Kadi Kenza*

*Mon binôme : Rahal Zouhair*

*Tous mes amis surtout : souad,wafa ,et tout les étudiants*

*De Master Biologie de l'université de kenchela*

*Et à tous ceux que j'aime*

*Et sans oublier est très langue que même la taille*

*D'une mémoire ne suffira pas donc a tout ceux*

*Ou celle avec qui j'ai partagé un moment de ma vie*

*A tout les enseignants de département de biologie.*

*Yassine*

## **Dédicace**

*D'abord, je remercie mon dieu, pour la force et le courage qu'il m'a donné pour élaborer ce travail.*

*A ceux qui ont dessiné les plus belles images de ma vie, qui me poussent aujourd'hui vers l'avant et rassures mes pas, qui m'ont tant appris et ont fait de moi ce que je suis, que Dieu les garde, joie de ma vie :*

**MERE et PERE**

*A mes chers frères et ma sœur*

*Mon encadreur : Mme. Kadi Kenza*

*Mon binôme : Yassine*

*A toutes la famille*

*A toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin  
de réalisé ce modeste travail*

*A tous mes fidèles amis*

*A tous les enseignants de Master Biologie de l'université de khenchela  
et sans oublier est très langue que même la taille d'une mémoire ne suffira pas donc a tout  
ceux*

*A tout les enseignants de département biologie.*

**Zouhair**

## Sommaire

### Introduction

#### *Première partie : Synthèse bibliographique*

#### *Chapitre I : Présentation de l'espèce Pituranthos scoparius*

I.1. Description botanique.....	01
I.2. Classification de la plante.....	01
I.3. Origine et répartition géographique.....	02
I.4. Propriétés thérapeutiques et emplois.....	02
I.5. Usages traditionnels.....	02

#### *Chapitre II : Généralité sur les flavonoïdes*

II.1. La phytothérapie.....	03
II.2. Les métabolites secondaires.....	03
II.3. Composés phénoliques.....	03
II.3.1. Définition.....	03
II.4. Classification.....	05
II.4.1. Acides phénoliques.....	05
II.4.1.1. Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque.....	05
II.4.1.2. Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique.....	06
II.4.2. Flavonoïdes.....	06
II.4.2.1. Biosynthèse des flavonoïdes.....	07
II.4.2.2. Activité biologique des flavonoïdes.....	09
II.4.2.2. Anthocyanes.....	10
II.4.3. Tannins.....	11
II.4.3.1. Les tanins condensés.....	11
II.4.3.2. Les tanins hydrolysables.....	11
II.4.4. Coumarines.....	12
II.4.5. Quinones.....	12
II.4.6. Stilbène.....	12
II.4.7. Lignanes.....	13
II.5. Propriétés biologiques des polyphénols.....	13
II.5.1. Activité antimicrobienne des flavonoïdes.....	13
II.5.2. Autres activités des flavonoïdes.....	14

#### *Chapitre III : Les souches bactériennes testées*

III. L'activité antibactérienne.....	15
III.1. Rappel sur les bactéries.....	15
III.2. la structure bactérienne.....	15
III.3. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques.....	15
III.4. Les souches bactériennes testées.....	16
III.4.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Schroeter) Migula (ATCC® 27853™).....	16
III.4.1.1. Taxonomie.....	16
III.4.1.2. Caractéristiques.....	17
III.4.2. <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> (ATCC® 25923™)et(ATCC® 43300™).....	17
III.4.3. <i>Escherichia coli</i> (ATCC® 25922™).....	18

*Deuxième partie : Etude expérimentale*  
*Chapitre IV : Matériels et Méthodes*

<b>IV.1. Matériel.....</b>	<b>20</b>
<b>IV.1.1 Matériel biologique.....</b>	<b>20</b>
<b>IV.1.1.1. Matériel végétal.....</b>	<b>20</b>
<b>IV.1.2. Réactifs chimiques et instrumentations.....</b>	<b>20</b>
<b>IV.1.3. Stérilisation du matériel.....</b>	<b>21</b>
<b>IV.2. Méthodes.....</b>	<b>21</b>
<b>IV.2.1. Technique de séchage.....</b>	<b>21</b>
<b>IV.2.2. Préparation de l'extrait brut.....</b>	<b>21</b>
<b>IV.2.3. Screening phytochimique des extraits végétaux.....</b>	<b>22</b>
<b>IV.2.3.1. Définition.....</b>	<b>22</b>
<b>IV.2.4. Fractionnement de l'extrait brut et extraction des composés phénoliques.....</b>	<b>23</b>
<b>IV.2.5. Dosage des flavonoïdes.....</b>	<b>25</b>
<b>IV.3. Activité antibactérienne.....</b>	<b>26</b>
<b>IV.3.1. Les souches bactériennes utilisées.....</b>	<b>27</b>
<b>IV.3.2. Repiquage des espèces bactériennes.....</b>	<b>27</b>
<b>IV.3.3. Préparation de l'inoculum.....</b>	<b>27</b>
<b>IV.3.4. Préparation des disques.....</b>	<b>27</b>
<b>IV.3.5. Test antibactérien.....</b>	<b>27</b>
<b>IV.3.6. La lecture.....</b>	<b>29</b>
<b>IV.3.7. Les souches bactériennes testées.....</b>	<b>29</b>

*Chapitre V : Résultats et discussion*

<b>V.1. Screening phytochimiques.....</b>	<b>31</b>
<b>V.2. Rendement des extraits secs.....</b>	<b>31</b>
<b>V.3. Dosage des flavonoïdes.....</b>	<b>32</b>
<b>V.4. Activité antibactérienne.....</b>	<b>34</b>
<b>V.4.1. Analyse de la variance.....</b>	<b>34</b>
<b>V.4.2. L'activité antibactérienne des extraits.....</b>	<b>35</b>

**Conclusion**

**Les références bibliographiques**

**Annexe**

**Résumé**

## Liste des abréviations

- A** : l'absorbance de l'extrait  
**A<sub>0</sub>** : l'absorbance de la solution de catéchine.  
**Ac** : Acétone  
**Ac asc** : Acide Ascorbique  
**ADN** : Acide désoxyribonucléique  
**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'Aluminium  
**AMPC** : adénosine monophosphate cyclique  
**ARN** : acide ribonucléique  
**ATCC** : American Type Culture Collection  
**Da** : dalton  
**DO** : Densité optique  
**E.coli** : Escherichia coli  
**EBR** : extrait brut  
**EQ** : équivalent quercétine  
**EQC** : Equivalent catéchine  
**Et al** : Et autres auteurs  
**FAC** : fraction de l'acétate d'éthyle  
**FAQ** : fraction aqueuse  
**FBU** : fraction butanolique  
**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer  
**FEP** : fraction l'éther de pétrole  
**gE** : gramme Extrait  
**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique  
**HCl** : Acide Chlorhydrique  
**HgCl<sub>2</sub>** : Chlorure de mercure II  
**HIV** : Virus de l'Immuno déficience Humaine  
**I<sub>2</sub>** : Diode  
**ISBN** : International Standard Book Number  
**KI** : Iodure de potassium  
**m** : masse de l'extrait de plante .  
**m<sub>0</sub>** : masse de la catéchine dans la solution  
**MeOH** : Méthanol  
**Mg** : Magnésium
-

## *Liste des abréviations*

---

**Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>** : Sodium de phosphate dibasique  
**NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : Phosphate monosodique  
**NaOH** : hydroxyde de sodium  
**NH<sub>4</sub>OH** : Ammoniaque  
**nm** : nanomètre  
**OH** : hydroxyles  
**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé  
**Oxa** : Oxacilline  
**P/V**: Poids sur volume  
**P<sub>A</sub>** : poids de la plante  
**P<sub>E</sub>** : Poids de l'extrait  
**pH** : potentiel hydrogène  
**Ps(A)** : Partie aérienne  
**Ps(R)** : Partie racine  
**Q** : quercétine  
**R%** : rendement en pourcentage.  
**Rdmt** : Rendement  
**SIDA** : Syndrome d'ImmunoDéficiency Acquis  
**UFC** : Unités formant des colonies  
**UV** : Ultra-violet.  
**V/V**: Volume sur Volume  
**X** : quantité des flavonoïdes  
**µl** : microlitre  
**µm** : micromètre

---

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Structure des squelettes des polyphénols.....	04
<b>Tableau 2:</b> Principaux acides hydroxybenzoïques .....	05
<b>Tableau 3:</b> Principaux acides hydroxycinnamiques.....	06
<b>Tableau 4:</b> Principales classes des flavonoïdes.....	10
<b>Tableau 5:</b> Principaux types de coumarines.....	12
<b>Tableau 6 :</b> Taxonomie de <i>P. aeruginosa</i> .....	16
<b>Tableau 7 :</b> Taxonomie de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
<b>Tableau 8 :</b> Taxonomie de <i>Escherichia coli</i> .....	19
<b>Tableau 9 :</b> Caractéristiques des souches bactériennes étudiées.....	29
<b>Tableau 10:</b> Résultats des tests phytochimiques sur les graines de <i>Pituranthos scoparius</i> .....	31
<b>Tableau 11:</b> Rendement (%) en extrait bruts des graines de <i>Pituranthos scoparius</i> .....	32
<b>Tableau 12:</b> Aanalyse de variance du dosage des flavonoïdes des fractions des graines du <i>Pituranthos scoparius</i> .....	33
<b>Tableau 13:</b> Aanalyse de variance du diamètre de la zone d'inhibition (cm).....	34
<b>Tableau 14 :</b> Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par les extraits de <i>Pituranthos scoparius</i> .....	36

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> <i>Pituranthos scoparius</i> .....	01
<b>Figure 2:</b> Structure de base d'acide phénolique.....	05
<b>Figure 3:</b> Structure du 2-phényle chromane.....	07
<b>Figure 4:</b> Structure générale des Flavonoïdes.....	07
<b>Figure 5:</b> Biosynthèse des flavonoïdes.....	08
<b>Figure 6:</b> Structure générale des anthocyanes.....	11
<b>Figure 7:</b> Structures chimiques d'un Stilbène.....	13
<b>Figure 8:</b> Structure chimique d'un lignan.....	13
<b>Figure 9:</b> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	17
<b>Figure 10:</b> <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
<b>Figure 11:</b> <i>Escherichia coli</i> .....	19
<b>Figure 12:</b> les graines du <i>Pituranthos scoparius</i> .....	20
<b>Figure 13:</b> Les étapes du fractionnement de l'extrait brut de plante étudiée.....	24
<b>Figure 14:</b> le rota vapeur utilisé.....	25
<b>Figure 15:</b> La courbe d'étalonnage de la quercétine.....	26
<b>Figure 16:</b> Méthode de diffusion sur agar (méthode des disques) (Boulekbache et al., 2012).....	28
<b>Figure 17:</b> Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/gE).....	33
<b>Figure 18:</b> Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des extraits testés sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853).....	37
<b>Figure 19:</b> Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des extraits testés sur <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).....	37
<b>Figure 20:</b> Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des extraits testés sur <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 43300).....	38
<b>Figure 21:</b> Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des extraits testés sur <i>E. coli</i> (ATCC 25922).....	38
<b>Figure 22:</b> L'effet des extraits de <i>Pituranthos scoparius</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853).....	40
<b>Figure 23:</b> L'effet des extraits de <i>Pituranthos scoparius</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).....	40
<b>Figure 24:</b> L'effet des extraits de <i>Pituranthos scoparius</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 43300).....	40
<b>Figure 25:</b> L'effet des extraits de <i>Pituranthos scoparius</i> sur <i>E. coli</i> (ATCC 25922).....	40

## **Introduction**

Depuis des milliers d'années, l'humanité a toujours utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires, elles constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques. Ainsi, l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (**Jaccot et Campillo, 2003**).

Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre les maladies paludisme (**Iserin et al, 2001**). Au début de **XXI<sup>ème</sup>** siècle. L'évolution des connaissances scientifiques, médicales et pharmacologiques conduit sur un chemin fort éloigné de ces remèdes. Les progrès de la pharmacologie permis d'avoir des produits de plus en plus puissants, de plus en plus ciblés, mais avec leurs effets secondaires possibles(**Christian et al, 2002**).

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe, la hamada et les oasis sahariennes. Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique et phytothérapie (**Duraffourd et al, 1997**).

Aujourd'hui les principes actifs (les terpénoïdes, les composés phénoliques et les alcaloïdes) des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins (**Hans, 2007**). Selon OMS plus de 80% de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours au traitement traditionnel pour faire face aux problèmes de la santé et de soins primaires (**Farnsworth, 1994**).

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et **les flavonoïdes** en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, nanticarcinogénique, anti-thrombotique cardioprotective et vasodilatatoire (**Middleton et al., 2000; Ksouri et al., 2007**).

C'est pourquoi nous nous intéressé à étudier une plante endémique et spontanée dans la région d'Aurès et qui est moins fréquemment utilisée par la population.

L'objectif de cette étude est d'estimer le dosage des flavonoïdes dans les graines d'une plante endémique ***Pituranthos scoparius*** et d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits obtenus avec différents méthodes d'extraction.

---

## ***Introduction***

---

Dans le cadre de la valorisation rationnelle des plantes médicinales à usages traditionnels, notre mémoire est constituée de deux parties :

La première partie est consacrée à l'étude bibliographique et botanique de la plante *Pituranthos scoparius*, les métabolites secondaires et à la fin de cette partie un aperçu général sur les souches bactériennes testées ou utilisées pour la mise en évidence du pouvoir antibactérien des extraits.

La deuxième partie : la partie expérimentale, avant de présenter les résultats obtenus, on a décrit le matériel et la méthodologie suivie dans cette étude dans le quatrième chapitre, ensuite on a discuté les résultats obtenus dans le cinquième chapitre.

---

## I.1. Description botanique

Le nom scientifique du « Gezzah » est *Pituranthos scoparius*. C'est une plante herbacée, aphyllé, à tiges souvent très ramifiées. Ombelle à involucre, ovoïde à 6 bandelettes.

C'est une plante herbacée, formant des touffes : tiges florifères érigées bien plus longues, à ombelles latérales, à pédoncule court (1 - 3 cm). Les fleurs est de couleurs blanches (**Quzel et Santa, 1963**).



**Figure 1 : *Pituranthos scoparius*.**

Quezel a décrit le genre *Pituranthos* comme une plante vivace, totalement aphyllé, à tige très ramifiées dès la base, plus ou moins dichotomes et portant des ombelles longuement pédonculées à involucre et involucelles polyphylles est des péricarpes ovoïdes à six bandelettes pétales verdâtres à nervures dorsales pubescentes et larges, fruits poilus (**Ozenda, 1958 ; Quezel et Sanata, 1963**).

## I.2. Classification de la plante

D'après, Quzel P .et Santa S., 1963, *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Benth. & Hook est classé comme suit :

**Règne :** Plantae (végétal)

**Embranchement :** Spermaphytes

**S/embranchement :** Angiosperme

**Classe :** Magnoliopsida (**Eudicote**)

**Ordre :** Apiales

**Famille :** Apiacées

**Genre :** *Pituranthos*

**Espèce :** *scoparius*

**Nom binomiale :** *Pituranthos scoparius*

### I.3. Origine et répartition géographique

Le genre *Pituranthos* possède plus de vingt espèces, dont certaines sont spécifiques à l'Afrique du nord (**Quezel et Sanata, 1963; Kaabeche, 1990**) et sont souvent rencontrées dans les régions arides ou désertiques (comme en Algérie elle est abondante dans les Aurès et au Sahara Central, le plateau du Tassili des Ajjers et dans le Hoggar (**Ozanda, 1991**)).

Le potentiel floristique algérien de ce genre comporte les espèces suivantes:

- *Pituranthos scoparius*, espèce abondante dans les Aurès.
- *Pituranthos chloranthus*, endémique au Sahara Algérienne.
- *Pituranthos battandieri* (Mair): endémique au Sahara marocain et l'oranie (**Bellakhdar., 1997**).

### I.4. Propriétés thérapeutiques et emplois

Le décocté des feuilles est efficace dans le traitement de l'asthme, alors que le macérât aqueux des feuilles est préconisé en cas d'ictère. Contre les morsures des vipères et les piqures des scorpions, certains recommandent l'application locale de la poudre des feuilles ; cette dernière en cataplasme soulagerait également les douleurs rhumatismales (**Boukef (a), 1986**).

### I.5. Usages traditionnels

La plante est notamment utilisée comme médicament contre (**Hammiche et al.; 2006**) :

- ❖ Les spasmes, Les douleurs du diabète, l'hépatite, les infections urinaires, et les difficultés digestives.
- ❖ L'espèce *Pituranthos Chloranthus* est employée, en cataplasmes sur la tête, contre les céphalées (**Nait Said., 2007**).
- ❖ Les espèces *triradiatus* et *tartuosus*, sont utilisées par la population bédouine contre les douleurs d'estomac, les parasites intestinaux ou comme agent régulateur de la menstruation chez les femmes (**Nait Said., 2007**).

## IV.1. Matériel

### IV.1.1 Matériel biologique

#### IV.1.1.1. Matériel végétal

L'espèce sélectionnée *Pituranthos scoparius*, leurs graines ont été récolté en période de florescence dans la région d'ARRIS Wilaya de Batna à la fin du moi d'Octobre 2014. La détermination de l'espèce à été faite à l'aide de la flore de Quezel et Santa (1963) et validée par Mr ZERAIB Azzeddine enseignant du Département d'Agronomie, Faculté sciences de la nature et de la vie, Université Abbes Laghrour de Khenchela.



Figure 12 : les graines du *Pituranthos scoparius*.

#### IV.1.2. Réactifs chimiques et instrumentations

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, **parmi ces produits:**

FeCl<sub>3</sub>, acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), HCl, NaOH, NH<sub>4</sub>OH, KI, I<sub>2</sub>, AlCl<sub>3</sub>, quercétine, méthanol,

**Parmi l'appareillage utilisé :**

Rotavapeur (HAHNVAPOR), spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau (JENWAY 6305 UV/VIS), Chambre d'observation UV « 264/365 nm » (VILBER COURMAT), Bain Marie (MEMMERT), pH mètres (Hanna), Agitateur magnétique (SCIOLOGEX), vortex (VELP), et Balance (OHAUS).

### Les autres produits et matériels

- une gélose Mueller-Hinton en boîte de Pétri.
- disques d'antibiotique, ou un distributeur permettant la dépose standardisée des disques sur la gélose.
- des souches pures des bactéries à étudier.
- un râteau ou un écouvillon.
- une micro pipette de 500 µl.
- tubes à essai.
- pipette pasteur.
- Eau physiologique stérile...
- Vortex.

### IV.1.3. Stérilisation du matériel

L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

## IV.2. Méthodes

### IV.2.1. Technique de séchage

Après la récolte, le matériel végétal (les graines) est débarrassé des débris. Pour s'assurer de la bonne conservation de notre plante, un séchage à l'air libre et à l'obscurité pendant une dizaine de jours a été réalisé. Elle est, ensuite, broyée par un broyeur et conservée dans des enveloppes de papier CRAFT.

### IV.2.2. Préparation de l'extrait brut

Dans le présent travail, nous avons ciblé les composés phénoliques. Des extraits hydro-alcooliques sont préparés par macération de la poudre végétale à une température ambiante dans le méthanol à 70% à raison de 1/5 (P/V) pendant 24 heures.

20 g de poudre végétal ont été repris avec 100 ml de méthanol à 70% dans un erlenmeyer de 200 ml. Le mélange a été laissé macérer pendant 24 heures à la température du laboratoire. Cette opération a été répétée trois fois successivement. Après filtration sur papier filtre, le filtrat est concentré au rota vapeur (HAHNVAPOR) sous vide à la température de 40 °C. On obtient donc l'extrait hydro-alcoolique brut (EBR).

### IV.2.3. Screening phytochimique des extraits végétaux

#### IV.2.3.1. Définition

Le screening phytochimique est un ensemble de méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante.

Le but final de l'étude des plantes médicinales est souvent d'isoler un ou plusieurs constituants responsables de l'activité particulière de la plante. De ce point de vue, les techniques générales de screening phytochimique peuvent être d'un grand secours. Ces techniques permettent de détecter, dans la plante, la présence des produits appartenant à des classes de composés ordinairement physiologiquement actifs (**Balegamire, 1987**).

#### a. Détection des composés phénoliques

##### a1. Détection des tanins

Les tanins sont mis en évidence à partir de 1 ml d'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  (1% préparé au méthanol). Après agitation de l'extrait, la couleur vire au bleu noir (**Karum et al., 2004**).

##### a2. Détection des coumarines

Placer 1 g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et le placer dans un bain marie pendant quelques minutes. Ajouter 0.5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10 %). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (**Rizk, 1982**).

##### a3. Détection des flavonoïdes

Un mélange de quelques gouttes de  $\text{Mg}^{2+}$  et de gouttes d'HCL concentré, placé dans un tube, est ajouté à 2ml d'extrait. L'apparition de la coloration rose, orange ou rouge indique la présence des flavonoïdes (**Malecet Pamelio, 2003**).

##### a4 . Détection des saponosides

Pour la détection des saponosides, 10 ml d'extrait placé dans un tube à essais sont agités pendant 15 secondes puis déposés durant 15 minutes. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (**Koffi et al., 2009**).

**b. Détection des terpènes****b1. Détection des stéroïdes**

Les stéroïdes sont révélés après addition de 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml d'extrait à chaud. Le mélange est ajouté à 0,5 ml d'acide sulfurique concentré. Après agitation l'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive (**Bruneton, 1999**).

**c. Détection des alcaloïdes**

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir des réactifs de Mayer ou Wagner. 10 ml d'extrait sont évaporés jusqu'à l'obtention d'un volume de 0,2ml, sur lequel 1,5 ml de HCl à (2%) sont ajoutés. Après agitation de la solution acide, 1 à 2 gouttes du réactif de Mayer ou Wagner sont ajoutés. L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre ou brun indique la présence d'alcaloïdes (**Mojab et al., 2003**).

**Réactif de Mayer :** la préparation de ce réactif s'effectue comme suit :

- Dissoudre 1,358 g de HgCl<sub>2</sub> dans 60 ml d'eau ;
- Dissoudre 5 g de KI dans 10 ml d'eau ;
- Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml d'eau.

Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité blanc

**Réactif de Wagner :** ce réactif a été préparé comme suit :

- Dissoudre 2 g de KI et 1,27 de I<sub>2</sub> dans 75 ml d'eau ;
- Ajuster le volume total à 100 ml d'eau.

Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

**IV.2.4. Fractionnement de l'extrait brut et extraction des composés phénoliques (Extraction liquide- liquide)**

L'extraction des composés phénoliques est réalisée selon la méthode décrite de (**Bruneton, 1993**) avec des modifications.

L'extrait brut (EBR) est fractionné en utilisant une série de solvants à polarité croissante (**Figure 13**). L'extrait brut est initialement mélangé avec l'acétate d'éthyle (V/V), après décantation la phase organique supérieure est récupérée. Cette étape est refaite trois fois. L'acétate d'éthyle est par la suite évaporé sous pression réduite à sec à 40°C par un évaporateur rotatif, et l'extrait résultant est considéré comme étant la fraction de l'acétate d'éthyle (FAC), La phase aqueuse inférieure est soumise à un autre fractionnement par le butanol pour donner fraction butanolique (FBU), La phase aqueuse inférieure est soumise à un autre fractionnement

par l'éther de pétrole (FEP), en suivant les mêmes étapes que le premier fractionnement par l'acétate d'éthyle. Le raffinat qui en résulte représente la fraction aqueuse (FAQ) résiduelle. Chaque fraction est pesée pour calculer le rendement de l'extraction, exprimé en gramme de l'extrait par 20 g de la matière sèche.

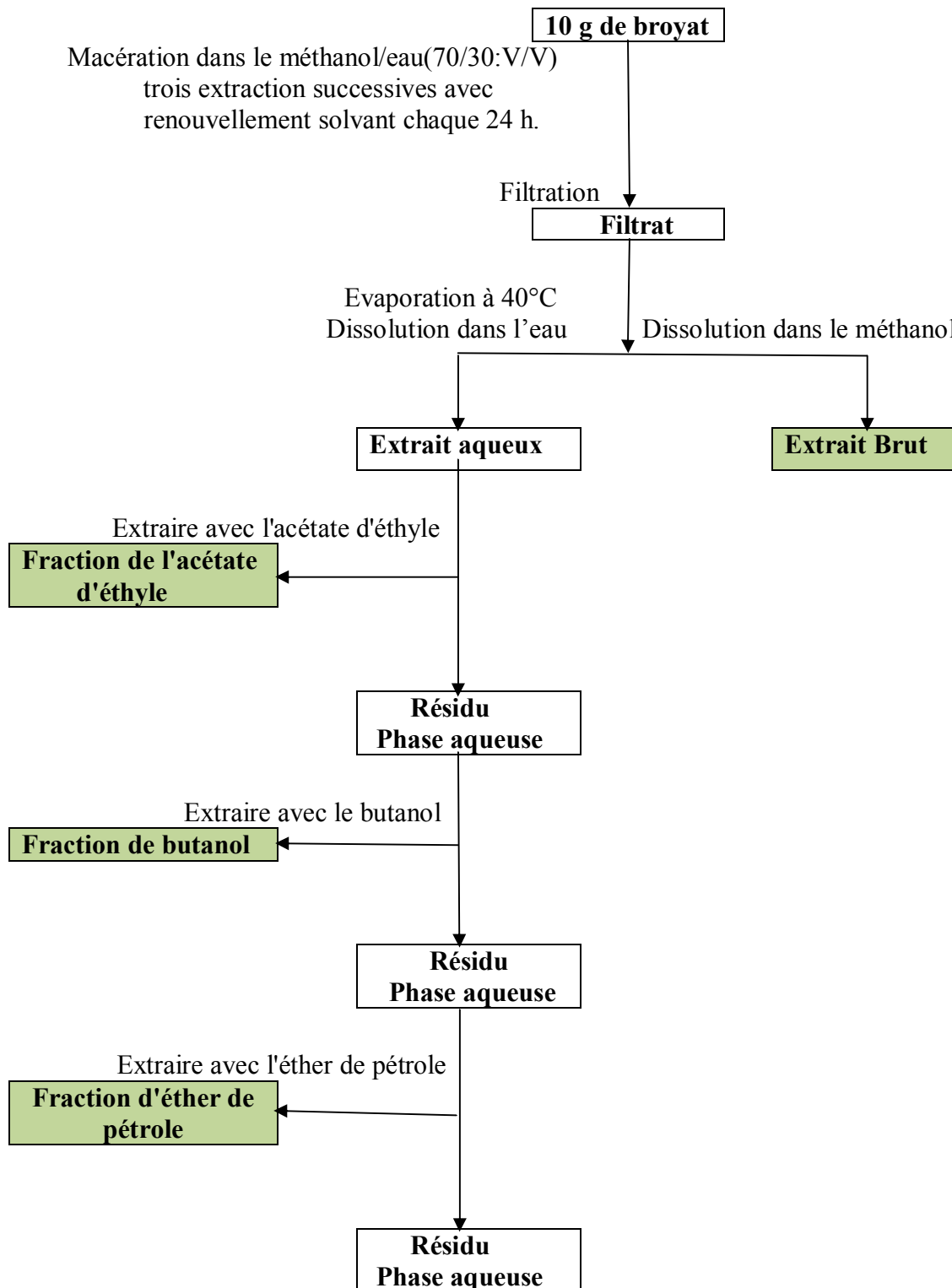


Figure 13 : Les étapes du fractionnement de l'extrait brut de plante étudiée.



Figure 14 : le rota vapeur utilisé.

### Calcul du rendement

Le rendement en extraits de la plante est le rapport entre le poids de l'extrait est le poids de la plante (Carré, 1953). Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante :

$$R = P_E / P_A \times 100$$

R : rendement de l'extrait en pourcentage

P<sub>E</sub> : Poids de l'extrait (g)

P<sub>A</sub> : poids de la plante (g)

### IV.2.5. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation de complexes entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium. Les complexes produits sont de couleur jaune absorbé dans le visible à 430 nm. (Alyafi, 2007)

les flavonoïdes d'extraits, acétate d'éthyle, butanolique et éther de pétrole ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (Gazin, 1996) ; 1ml de chaque extrait (préparés dans le méthanol pour avoir des concentrations convenables) a été ajouté à 1 ml de la

solution d'  $\text{AlCl}_3$  (2%, dans le méthanol). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes dans les extraits a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage  $y=ax$  établie avec la quercétine à différentes concentrations (0-40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , chacune a été préparée dans le méthanol) pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les extraits servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes a été exprimé en milligrammes équivalents de quercétine par grammes du poids d'extrait (mg EQ/gE).

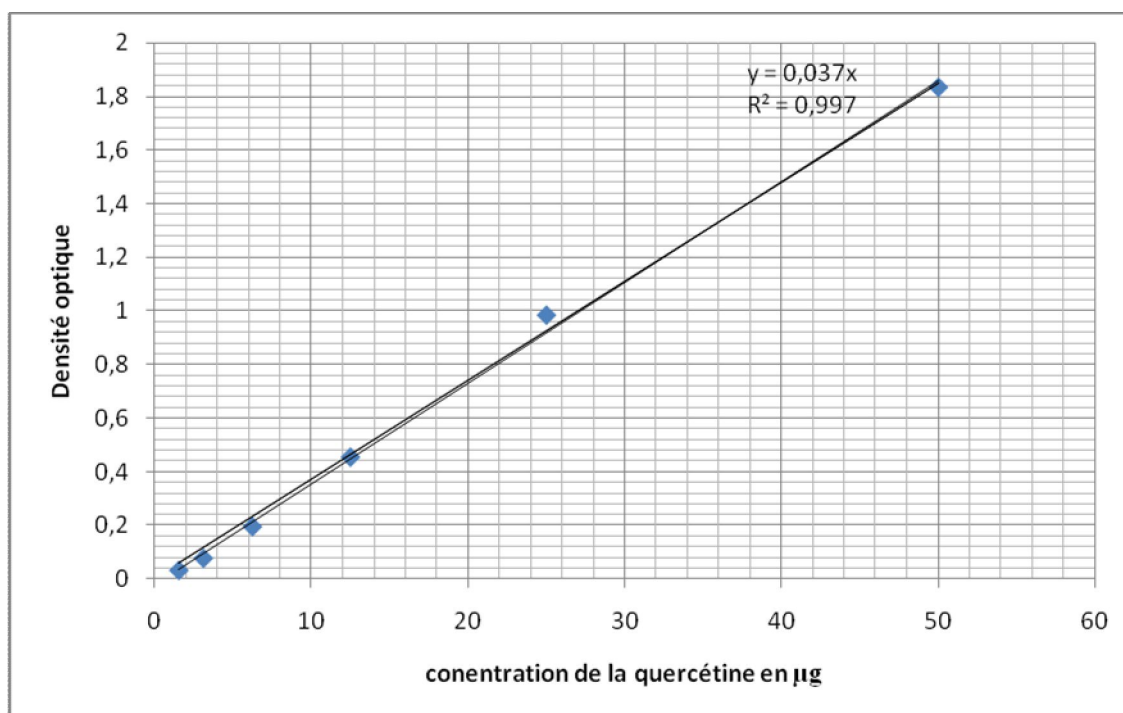


Figure 15: La courbe d'étalonnage de la quercétine.

- **Procédure expérimentale**

Des volumes égaux de l'extrait et une solution  $\text{AlCl}_3$  (2%) sont mélangés. L'absorbance est mesurée à 430 nm, après incubation à température ambiante pendant 40 min. Dans les mêmes conditions et de la même façon, sont mesurées les absorbances de la série des solutions standards de catéchine préparées à partir d'une solution mère de concentration égale à 1 mg/ml. Toutes les manipulations sont répétées 3 fois.

### IV.3. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des composés phénoliques a été réalisée par la méthode de diffusion par disque. Bien que cette méthode soit reconnue comme fiable et

reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs.

Le test de sensibilité a été effectué selon la méthode de diffusion des disques décrite par **(Dulger et Gonuz, 2004 ; Parekh et Chanda, 2007 ; Rota *et al.*, 2008)**.

Les souches bactériennes étudiées dans notre expérimentation ont été fournies par le laboratoire de Microbiologie à l'hôpital de la wilaya de Khenchela.

#### **IV.3.1. Les souches bactériennes utilisées**

Les souches utilisées sont des souches de référence de l'American type culture collection (ATCC), gracieusement fournies par le de Microbiologie à l'hôpital de la wilaya de Khenchela puis conservées à 4 °C dans des tubes à essais contenant de la gélose inclinée.

#### **IV.3.2. Repiquage des espèces bactériennes**

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

#### **IV.3.3. Préparation de l'inoculum**

des colonies bien séparées des espèces bactériennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 10 ml de bouillon nutritif puis portées à l'incubation pendant 24 heures à 37°C.

#### **IV.3.4. Préparation des disques**

Des disques de papier Whatman n°1 de 6 mm de diamètre, ont été stérilisés et injectés par les différentes concentrations des extraits phénoliques.

#### **IV.3.5. Test antibactérien**

Le Muller Hinton contenant l'inoculum a été coulé dans des boîtes de Pétri stériles. Ces dernières ont été séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi, par la suite, les disques injectés par le principe actif ont été appliqués.

- **Test de diffusion sur l'agar**

L'activité antibactérienne des extraits aqueux et méthanolique de *Pituranthos scoparius* est évaluée par la technique de diffusion sur l'agar (méthode des disques) selon la méthode décrite par Falleh et ses collaborateurs (2008) vis-à-vis de quatre souches bactériennes (à Gram-: *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* et à Gram+: 2 souches de *Staphylococcus aureus*). Les différentes espèces bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton, puis incubées à 37 °C pendant 24 h. Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique à une turbidité équivalente à 0,5 McFarland. Un prélèvement à partir de cet inoculum sert à ensemercer de nouvelles boîtes de Pétri

contenant le milieu Mueller Hinton par technique d'écouvillonnage. Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre, stériles, sont chargés de 15  $\mu$ l des extraits aqueux ou méthanolique et placés à la surface de ces boîtes. Les disques des contrôles négatifs sont imprégnés d'eau distillée. Des disques standards contenant l'antibiotique de référence (oxacilline, 15  $\mu$ g par disque) servent de contrôles positifs. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h. Les résultats sont exprimés en diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques (Lesueur et *al.*, 2007 ; Boulekbache et *al.*, 2012) (figure16).

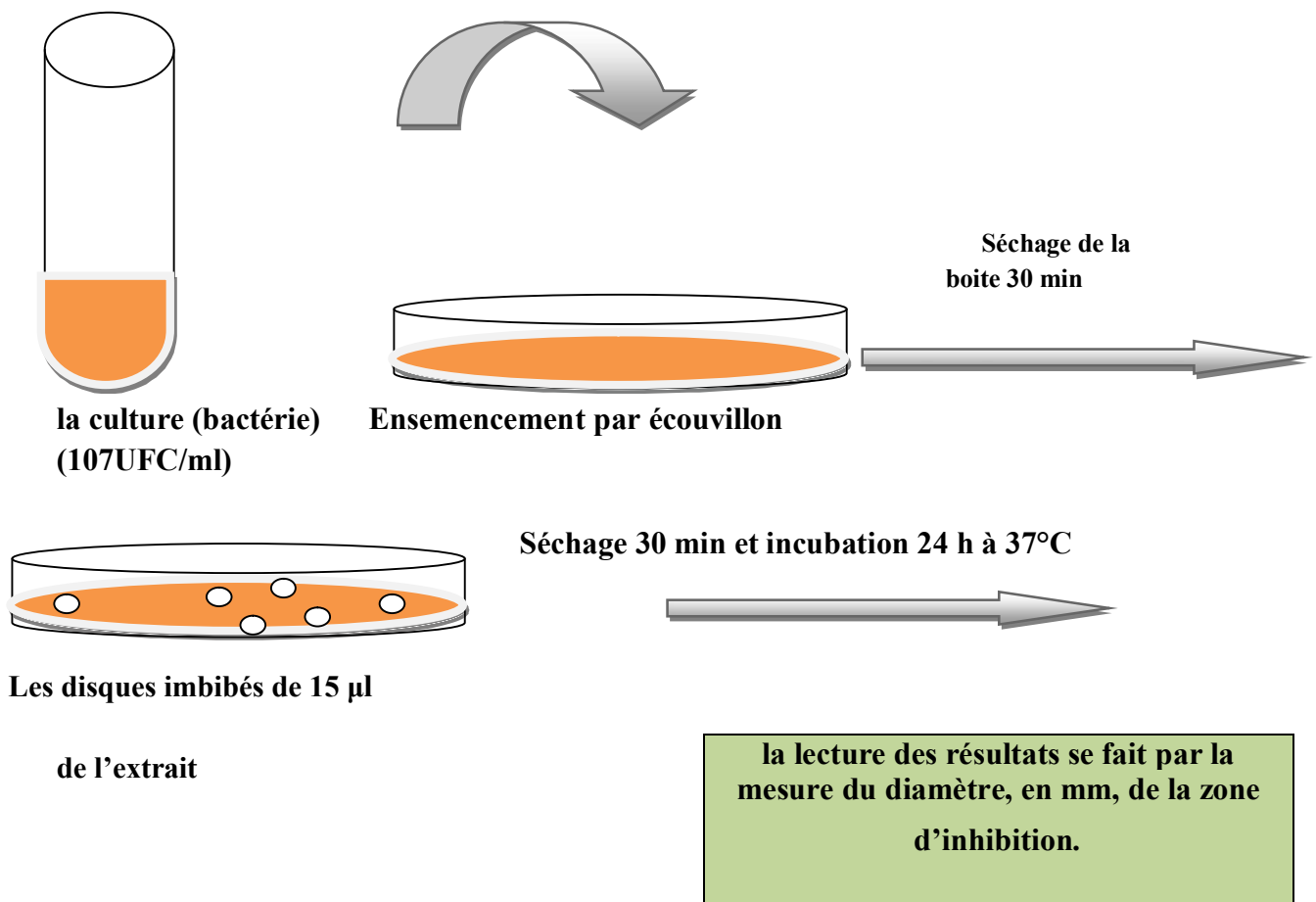


Figure 16 : Méthode de diffusion sur agar (méthode des disques) (Boulekbache et al., 2012).

#### IV.3.6. La lecture

Après incubation les diamètres d'inhibition ont été mesurés, avec précision, en millimètre. La zone d'inhibition détermine la sensibilité bactérienne vis-à-vis des composées phénoliques (Vila et al., 1998).

La sensibilité aux différents extraits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour le diamètre moins de 8 mm ; sensible (+) pour un diamètre entre 9 à 14 mm; très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm (Moreira et al., 2005).

**NB:** dans la méthode d'aromatogramme en utilise aussi un disque imprégné par 5µl de méthanol (test négative) et un disque imprégné par 5µl d'antibiotique Oxaciline (test positif).

#### IV.3.7. Les souches bactériennes testées

**Tableau 9 : Caractéristiques des souches bactériennes étudiées.**

Souches microbiennes	Familles	Type	Pouvoir pathogen
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonaceae</i>	Gram négatif	Infection pulmonaire peut être primitive ou secondaire à une septicémie.
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Micrococcaceae</i>	Gram positif	<i>Staphylococcie</i> cutanées, sous-cutanées et muqueuses, osseuses, pulmonaire, toxi-infection alimentaire, entérocolites aigue.
<i>Esherichia coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Gram négatif	Différentes formes de diarrhées, dysenterie, rôle des enterotoxines, de l'endoxine, des adhesine, certains de ces facteurs sont également impliqués dans des infections des tissus profonds.

**Analyse statistique des données**

Les analyses de variance des résultats du dosage des flavonoïdes et les résultats de l'activité antibactérienne ont été réalisées par le logiciel statistique MINITAB.

Les différences considérées hautement significatives à  $p < 0.01$ .

### V.1. Screening phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée (les graines) de la plante par les réactions qualitatives de caractérisation.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les graines de la plante étudiée *Pituranthos scoparius* épuisés par l'eau, méthanol et l'acide sulfurique sont regroupés dans le **tableau 10**.

**Tableau 10: Résultats des tests phytochimiques sur les graines de *Pituranthos scoparius*.**

Classes recherchées	Couleur	Résultat trouvé
<b>Flavonoïdes</b>	coloration jaune	+
<b>Tanins</b>	Une coloration vert brunâtre ou bleu-noir.	++
<b>Stéroïdes</b>	coloration violette	++
<b>Alcaloïdes</b>	Absance d'un précipité blanc jaunâtre ou brun	-
<b>Saponosides</b>	L'apparition d'une mousse stable	-
<b>Coumarines</b>	fluorescence des taches	++

- : Test négatif ; ++ : Test positif ; + : Test faiblement positif.

Dans les graines de la plante étudiée *Pituranthos scoparius*, la recherche des alcaloïdes et Saponosides s'est montrée négative. Par contre, les flavonoïdes, les tanins, les stéroïdes et les coumarines sont présents en quantités considérables. La mise en évidence de cette dernière classe a été prouvée par (**Halim et al., 1995**) sur le même espèce de la plante *Pituranthos scoparius*.

Nous notons que les Flavonoïdes sont présents en faible quantité.

D'autres résultats reportés par (**Cushnie et al., 2005**) sur trois plante de la famille des *Apiacées* : *Prangos ferulacea*, *Chaerophyllum macropodium* et *Heracleum persicum* ont montré que ces plantes contiennent les mêmes classes des métabolites secondaires.

### V.2. Rendement des extraits secs

Après avoir effectué la préparation des extraits de 20g des graines de la plante, on les récupère et on calcule leur rendement, le **tableau 11** résume les différents résultats.

**Tableau 11: Rendement (%) en extrait bruts des graines de *Pituranthos scoparius*.**

Extraits	Rendements (%)
Extrait méthanolique brut	0.024
Extrait aqueux	2.8
Fraction l'éther de pétrole	0.024
Fraction d'acétate d'éthyle	0.55
Fraction butanolique	0.055

Les résultats montrent que le rendement en extrait aqueux de l'ordre de 2.8% est supérieur par rapport aux autres extraits, suivi par l'extrait de la fraction d'acétate d'éthyle à raison de 0.55%.

Les rendements en fraction butanolique et les fractions l'éther de pétrole et l'extrait méthanolique brut sont de l'ordre de 0.055, 0.024 et 0.024% respectivement.

Nous expliquons cette variation du rendement entre les extraits bruts dans notre étude est due à la nature du solvant d'extraction ainsi que la nature des polyphénols présents dans notre plante.

### V.3. Dosage des flavonoïdes

L'étude quantitative de l'extrait méthanolique au moyen des dosages spectrophotométriques, selon la méthode de trichlorure d'aluminium avaient pour objectif la détermination de la teneur totale des flavonoïdes. Une courbe d'étalonnage (**Figure17**) a été tracée pour cet objectif, établie avec la quercétine à différentes concentration. Des mesures de densité pour chaque fraction réalisées à 430 nm. Les quantités des flavonoïdes correspondants ont été rapportées en équivalent milligramme de quercétine par gramme d'extrait et déterminés par l'équation de type:  $y=a x$  :  $y=0.037x$

#### . Analyse de la variance

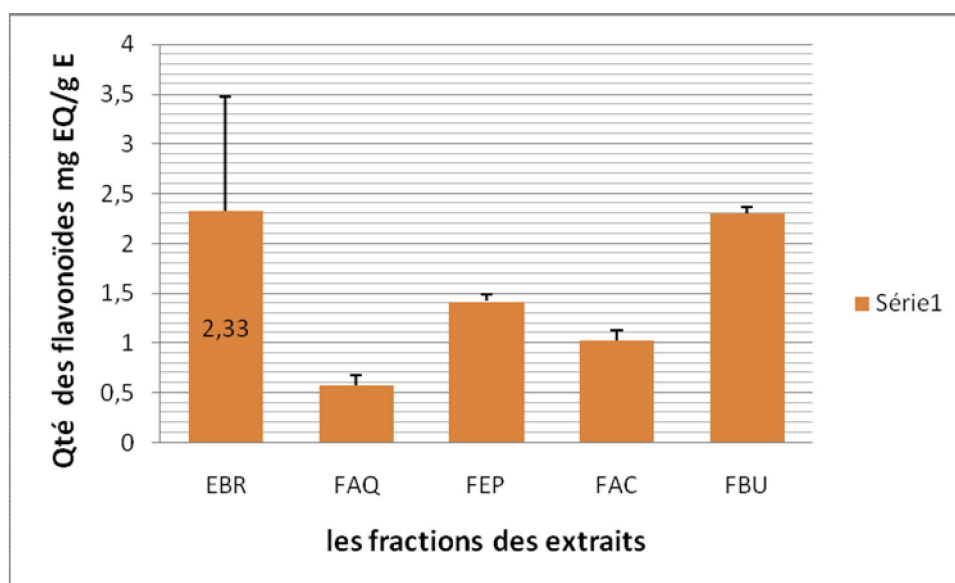
Les résultats de l'analyse de variance du dosage des flavonoïdes sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 12: l'analyse de variance du dosage des flavonoïdes des fractions des graines du *Pituranthos scoparius***

source	DDL	SC	CM	F	P
Extraits	4	41.976	10.494	36.89	0.000
Dosage	2	0.388	0.194	0.532	0.544
Erreur	8	2.276	0.284		
Total	14	44.640	1.47		

L'analyse de variance des résultats du dosage des flavonoïdes en fonction des extraits présente une différence significative entre les extraits des fractions avec  $p=0.000$ , et il n'y a pas une différence significative entre les doses des flavonoïdes dans ces extraits ( $p=0.544$ )

Les résultats du dosage des flavonoïdes totaux dans nos extraits sont représentés dans la (figure 17).



**Figure17:Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/gE).**

Suivant la (figure17) ci-dessus, les teneurs en flavonoïdes, exprimés en mg équivalent quercétine par g extrait sont : 2.33mg, 2.30mg, 1.42mg, 1.03mg, 0.58mg. respectivement avec les extraits méthanolique brut, fraction butanolique, fraction l'éther de pétrole, fraction aqueux et fraction d'acétate d'éthyle . l'extrait méthanolique brut, représente la teneur la plus élevée, tandis que la teneur la plus basse a été obtenue avec l'extrait fraction aqueux.

Nous observons que les teneurs élevées en flavonoïdes sont enregistrées dans l'extrait méthanolique brut avec des concentrations de 2.33 mg EQ/gE, suivi par l'extrait fraction butanolique 2.30mg EQ/ g E.

Pour l'extrait aqueux, les teneurs obtenus sont faibles.

Les résultats de (Bouaziz et al., 2009) ont révélé que l'extrait aqueux de *P. chloranthus* possède une teneur élevée en flavonoïdes par rapport à celle de l'extrait méthanolique avec des valeurs de 0.38 mg équivalent de rutine/ g et 0.19 mg/ g respectivement.

L'étude portée sur les graines de cumin (*Cuminum cyminum*) de la famille des Apiacées reportée par (Ho et al., 2008) a révélé une teneur en flavonoïdes de l'ordre de 241.1 mg EC/ g qui est supérieure par rapport à nos résultats.

Cette différence trouve probablement son explication dans la différence d'un certains nombres de facteurs intrinsèques et extrinsèques à savoir la méthode d'extraction, l'origine de la plante et le cycle végétatif de la plante ainsi que l'influence des facteurs climatiques de la zone de récolte sur l'accumulation et les teneurs des métabolites dans la plante.

## V.4. Activité antibactérienne

### V. 4.1. Analyse de la variance

Les résultats de l'analyse de variance de l'activité antibactérienne sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 13: Aanalyse de variance du diamètre de la zone d'inhibition (cm).**

source	DDL	SC	CM	F	P
Souches	3	269.94	89.98	61.12	0.000
Extraits	5	2206.83	441.37	299.80	0.000
Interaction	15	226.06	15.07	10.24	0.000
Erreur	48	70.67	1.47		
Total	71	2773.50			

L'analyse de variance des résultats de l'activité antibactérienne en fonction des extraits et des souches testées présente une différence significative entre les extraits testés (extraits brut, l'extrait alcaloïdique, test négatif et test positif) avec  $p=0.000$ , et une différence significative entre les souches testées avec *Pseudomonas Aeruginosa* (G-), *Escherichia coli* (G-), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) (G+) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) (G+)  $p=0.000$ , ainsi que l'interaction entre les souches et les extraits(  $p=0.000$ ).

#### V.4.2. L'activité antibactérienne des extraits

L'activité antibactérienne des extraits (Extrait méthanolique brut, Fraction l'éther de pétrole, Fraction d'acétate d'éthyle et Fraction butanolique) de *Pituranthos scoparius* est testée vis-à-vis quatre souches bactériennes via la méthode de diffusion sur l'agar.

La moyenne du diamètre d'inhibition a été calculée à partir de trois répétitions pour chaque concentration.

Les résultats qu'on a pu obtenu indiquent que la zone d'inhibition est différente d'un extrait à l'autre, d'une souche à l'autre.

l'aromatogramme est le résultat de l'étude de la sensibilité d'un micro-organisme aux divers extraits. Il renseigne sur les activités bactériostatiques des extraits.

La sensibilité ou la résistance de la bactérie est appréciée en mesurant autour du disque contenant l'antibiotique c'est le diamètre de la zone d'inhibition de sa croissance. Le diamètre varie avec la concentration (ou l'extrait) et le pouvoir de diffusion des antibiotiques employés (Delafontaine. P et al., 1966).

Selon le diamètre de la zone d'inhibition :

- La zone d'inhibition est claire, c'est que les bactéries sont sensibles et leur développement est inhibé par le principe actif.
- La zone d'inhibition avec colonies c'est-à-dire que certaines bactéries sont sensibles et d'autres résistantes. Celles-ci sont des mutants sélectionnés pour lesquels le principe actif ne présente pas l'effet inhibiteur.
- Absence de la zone d'inhibition, c'est-à-dire l'antibiotique ou l'extrait n'a aucune action sur les bactéries. Malgré la présence de l'antibiotique ou l'extrait, les micro-organismes se développent autour du disque.

Les résultats de l'activité antibactérienne sont illustrés dans le tableau ci-dessous

**Tableau 14 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par les extraits de *Pituranthos scoparius* .**

Microorganismes	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)					
	Contrôle négatif	EBR	FEP	Oxa	FAC	FBU
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	-	08	07.5	15.5	07.5	07
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	-	12.5	08	21.5	17.5	14
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 43300)	-	13	08	20	16.5	10
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	-	07.5	07.5	20.5	09	07

**Non sensible (-)** ou résistante : diamètre < 8mm.

**Sensible (+)** : diamètre compris entre 9 à 14 mm.

**Très sensible (++)** : diamètre compris entre 15 à 19 mm.

**Extrêmement sensible (+++)** : diamètre > 20 mm.

l'extrait méthanolique brut (EBR) a manifesté une activité modérée contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 et 43300) avec des zones d'inhibition de 12.5 mm et 13 mm respectivement, et une faible activité contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* avec des zones d'inhibition de 8 mm et 7,5 mm respectivement.

L'extrait Fraction d'acétate d'éthyle (FAC) du *Pituranthos scoparius* semble avoir l'effet inhibiteur le plus puissant, parmi les cinq extraits, en présentant des zones d'inhibition de croissance surtout sur les souches *Staphylococcus aureus* (une zone d'inhibition > 17mm), et un faible effet sur *Pseudomonas aeruginosa* (7.5 mm) et *Escherichia coli* (9mm).

L'antibiotiques Oxacilline (Oxa) a des zones d'inhibition supérieures à toutes les souches testées (de 15 à 21.5mm).

Pour F. Ether de pétrole (FEP), nous avons obtenu les diamètres moyens des zones d'inhibition suivants : 7.5 mm sur *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et sur *Escherichia coli*, et 8 mm sur *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 et 43300).

L'extrait Fraction butanolique (FBU) les diamètres moyens des zones d'inhibition considérable sont 14 et 10 mm sur *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et sur (ATCC43300) respectivement et des diamètres courts sont 7 mm sur *Escherichia coli*.

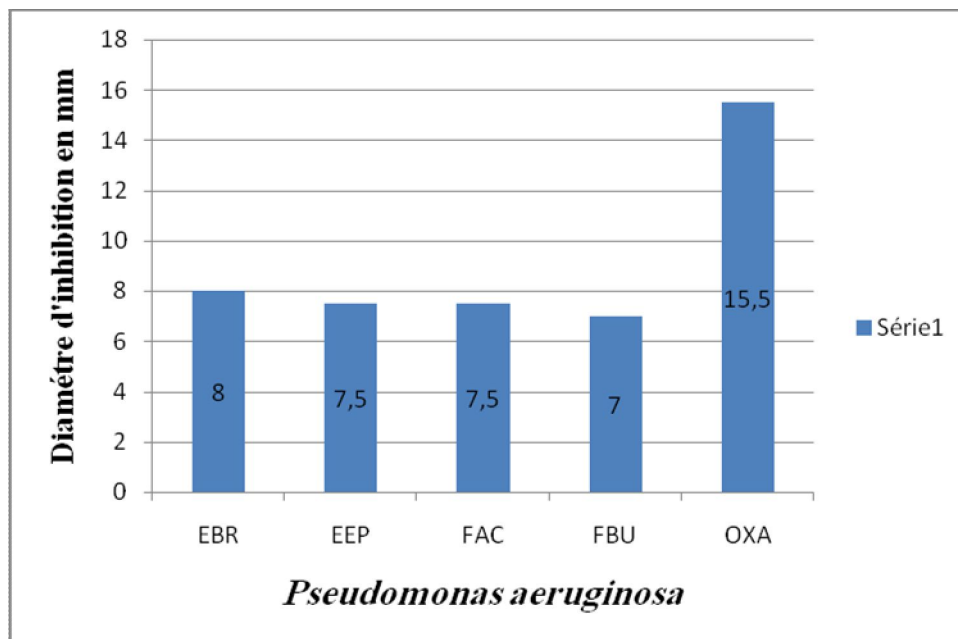


Figure 18: Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des extraits testés sur *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

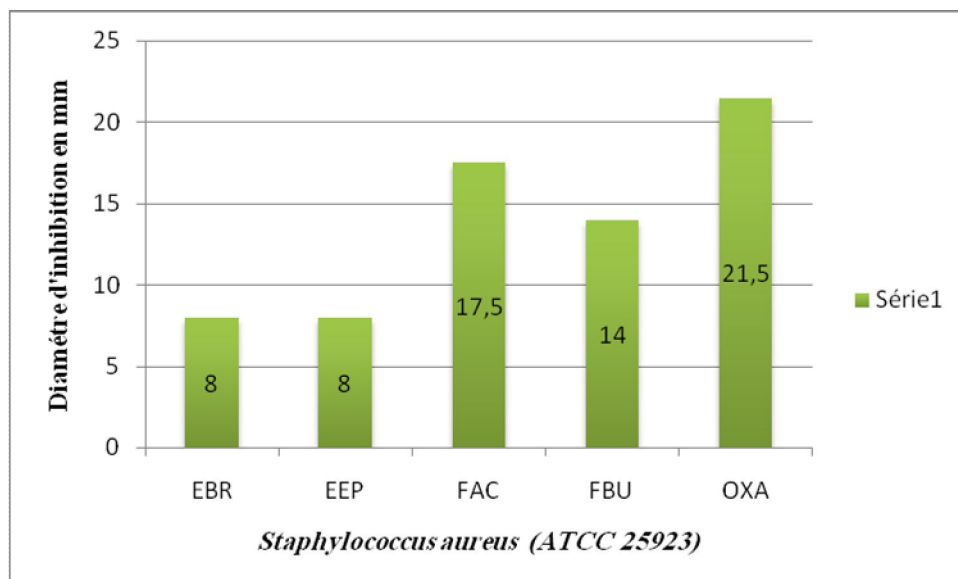


Figure 19 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des extraits testés sur *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

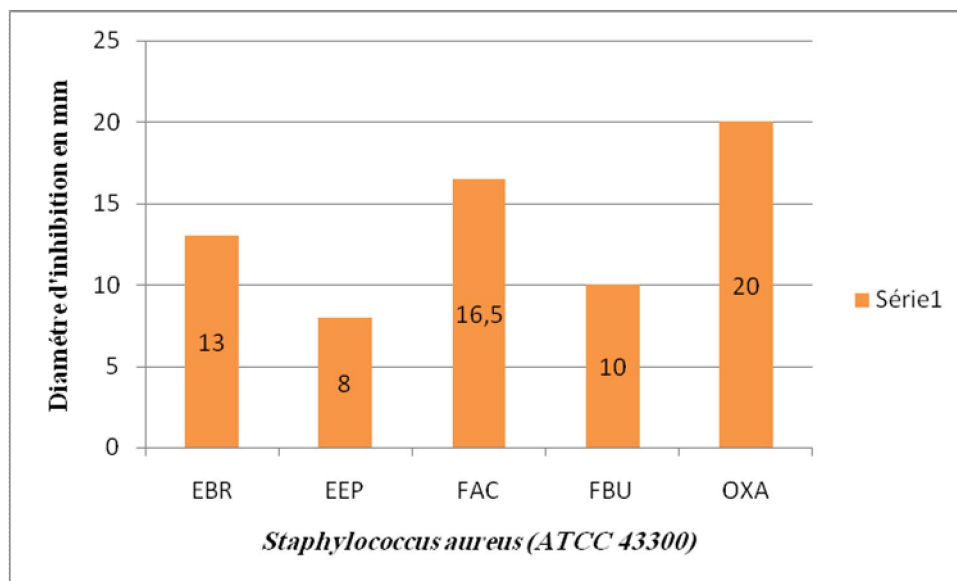


Figure 20 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des extraits testés sur *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300).

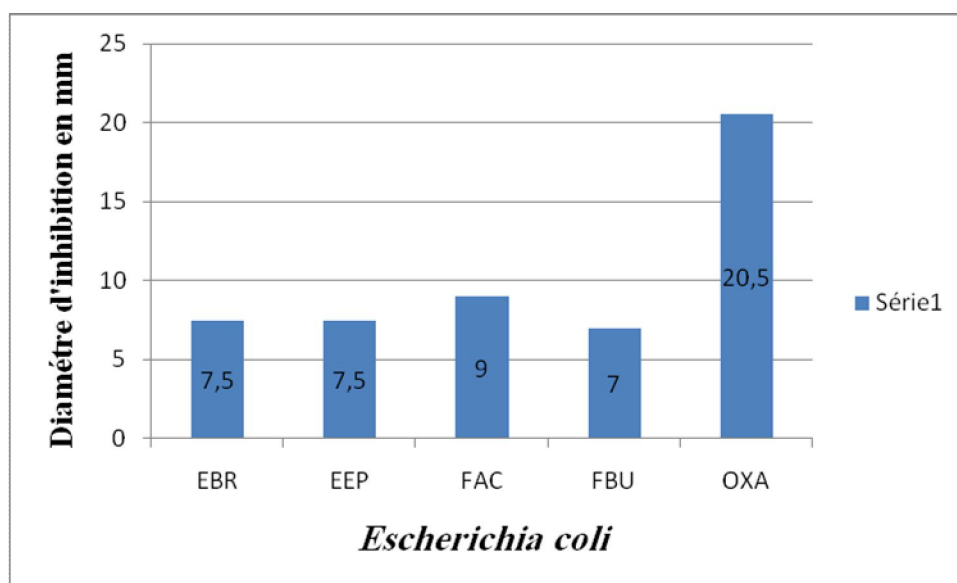


Figure 21 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des extraits testés sur *E. coli* (ATCC 25922).

Toutes les souches bactériennes testées se sont révélées sensibles à l'extrait méthanolique.

Les souches *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli* possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne des 4 extraits du *Pituranthos scoparius*.

L'hypersensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et la souche *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) peut s'expliquer par la probabilité de la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et les extraits naturels due à l'absence de la membrane externe (**Balentine et al., 2006**).

L'antibiotique sont également plus actifs sur les bactéries à gram positif que sur les bactéries à gram négatif (**Kolter et al., 1997**).

La paroi des bactéries Gram+ est riche en protéines tandis que chez les souches Gram-, elle est surtout assemblée en lipopolysaccharides (LPS), la membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière de perméabilité efficace. Le LPS, grâce à ses charges négatives de surface, empêche la diffusion des molécules hydrophobes, et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries Gram+ sont moins protégées contre les agents antibactériens, le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 000 D (**Ousslah et al., 2007**). Cela semble avoir une nette corrélation avec nos résultats obtenus.

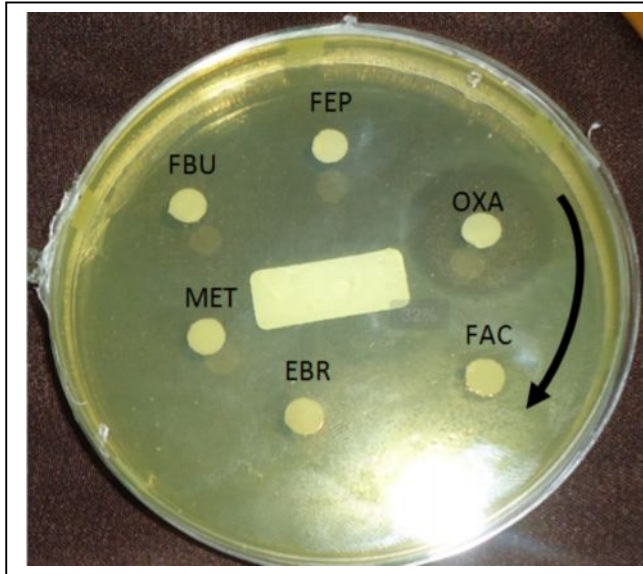


Figure 23 : L'effet des extraits de *Pituranthos scoparius* sur *staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

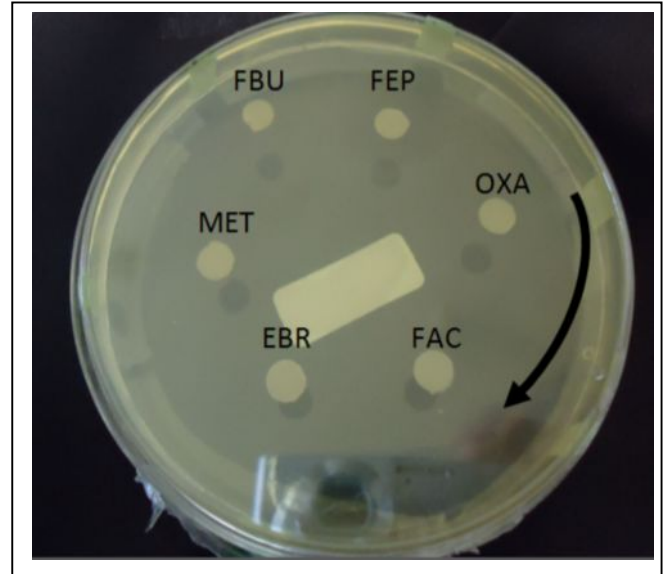


Figure 22 : L'effet des extraits de *Pituranthos scoparius* sur *pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

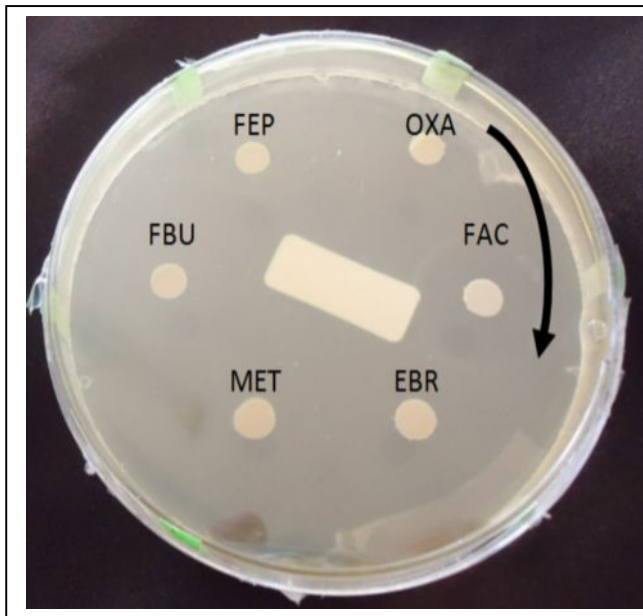


Figure 25 : L'effet des extraits de *Pituranthos scoparius* sur *E.coli* (ATCC 25922 ).

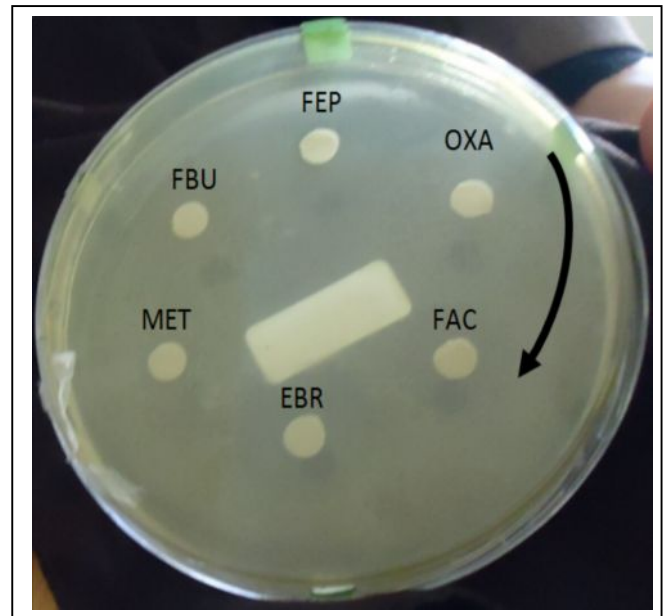


Figure 24 : L'effet des extraits de *Pituranthos scoparius* sur *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300).

### Conclusion

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits chimiques. Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites secondaires. qui sont des «antibiotiques» au sens large, car ils protègent les plantes contre les champignons, les bactéries, les animaux et même les autres plantes.

Toutefois, il ne s'ensuit pas nécessairement que les mêmes composés sont aussi toxiques ou bénéfiques lorsqu'ils se trouvent dans la plante que lorsqu'ils en sont extraits, car il peut y avoir des effets synergiques des composés chimiques dans la plante.

Le screening phytochimique a révélé que dans les graines de la plante étudiée *Pituranthos scoparius*, les flavonoïdes, les tanins, les stéroïdes et les coumarines sont présents en quantités considérables. Par contre, la recherche des alcaloïdes et les Saponosides s'est montrée négative. L'analyse quantitative des extraits du *Pituranthos scoparius* est représentés par le dosage. L'extrait polaire (aqueux) est l'extrait à teneur considérable en métabolites est le plus riche, alors les extraits apolaires (éthérique et dichlorométhanique) sont les extraits en teneurs faibles.

Au cours de cette étude nous avons réalisé un test antibactérien vis-à-vis de quelques germes pathogènes, les résultats ont montré que tous les extraits testés sont actifs donc les graines de *Pituranthos scoparius* peut être utilisé dans une préparation thérapeutique et la fraction acétate d'éthyle à une parfaite illustration au regard de son l'activité antibactérienne in vitro contre la souche *Staphylococcus aureus*. En effet, ce solvant concentre mieux le principe actif que tous ceux utilisés au cours de cette étude et donne l'espoir qu'une purification plus poussée placerait ce principe actif à la hauteur des spécialités pharmaceutique couramment utilisées. Cette étude, au delà de ses objectifs à terme qui consistent à révéler de nouvelles molécules anti-infectieuses.

Comparés à l'oxacilline qui est un antibiotique synthétique destiné spécialement à combattre ce genre de bactéries, les composés actifs des plantes testées ont montré une bonne aptitude à prendre le relais de cet antibiotique, cette aptitude est surtout notée sur *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)et (ATCC 43300) où l'action était très proche de celle de l'antibiotique.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense et chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui nécessitent d'être exploitées par les recherches. Dans ce contexte, et comme perspective on propose de :

- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
-

## *Conclusion*

---

- En ce qui concerne l'activité antibactérienne il serait intéressant de définir le mécanisme d'action des substances végétales de la plante sur les micro organismes.
  - la synthèse de médicaments à base de ces plantes ne sera que bénéfique surtout pour les patients qui manifestent des signes d'allergie pour les produits de synthèse.
  - la synthèse de médicaments est efficace dans le traitement de l'asthme, cas d'ictère, les morsures des vipères et les piqûres des scorpions, cataplasme et soulagerait les douleurs rhumatismales.
-

## Les références bibliographiques

- .Alyafi Alzhri,G. 2007.** Determination of chemical composition of Prangos and the possibility to use in the applied field, Damascus University. P : 54.
- .Ata M.L., 2006.** Etude phytochimique d'une fabacée tropicale, *Lochocarpusnic* ou évaluation biologique préliminaire. université de Limoges: 33-35. (Bruneton, 1993).
- .Bahaz M., Rachdi H., 2010.** Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhetinolepis Lonadoides* Coss (Tichert); Mémoire d'ingénieur, université Kasdi merbah, (Ouargla): 25-26.
- .Bahorun T, Gressier B, Troitin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin J C, Pinkas M, Luycky M and Gazin M .1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46, 1086-1089.
- .Balegamire B. 1987.** Contribution à la lutte contre les maladies entériques par la médecine traditionnelle : Évaluation de l'effet des extraits de quelques plantes médicinales sur les souches des bactéries pathogènes entériques (*Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* et *S. typhi*) et de la flore normale intestinale (*Escherichia coli*, *Escherichia aerogenes*) par la technique de tests antibiogrammes, mémoire, inédit, ISP-BUKAVU, 35 pages.
- .Balentine, C.W., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Duong, D.Q., Pohlman, F.W. 2006.**The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*. 73: 413-421.
- .Barker, A. P., Vasil, A. I., Filloux, A., Ball, G., Wilderman, P. J. & Vasil, M. L. 2004.** novel extracellular phospholipase C of *Pseudomonas aeruginosa* is required for phospholipid chemotaxis. *Mol Microbiol* 53, 1089-1098.
- .Batzli J. M. C., Graves W. R. and Berkum P. V. 1992.** Diversity among rhizobia effective with *Robinia pseudoacacia* L. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:2137-2143.
- .Bellakhdar, J. 1997.** Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocaine traditionnelle, ibis Press.
- .Belyagoubi N., Benhammou N., 2011.** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, université Aboubakr Belkaïd, (Tlemcen): 12.
- .Benarous K., 2009.** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes:  $\alpha$ -amylase, trypsine et lipase. Mémoire d'ingénieur en génie biologique, université Amar Telidji (Laghouat): 24.
-

## Les références bibliographiques

---

---

- .Benchelah A. C., Bouziane H., Maka M., Ouahes C. 2000.** *Fleurs du Sahara*, Ibis Press, Paris, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 40, No. 6.
- .Bessas A., Benmoussa L., Kerarma M., 2007.** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire d'ingénieur en biologie. université djillali liabes, (sidi bel-abbès): 14-17.
- .Bhat S. V., Nagasampagi B. A., Sivakumar M., 2005.** *Chemistry of Natural Products*. Narosa, New Delhi, India. , Ch. 4: 237.
- .Bouaziz, M., Dhouib, A., Loukil , S., Boukhris, M. ; and Sayadi, S. 2009.** Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts of some wild plants collected from the south of Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, 8 (24): 7017-7027.
- .Boukef M.K. 1986.** Médecine traditionnelle et pharmacopée : les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Tunisie, 350.
- .Boulekbache-Makhlouf, L., Slimani, S., Madani, K. 2012.** Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 41 (2013) :85– 89.
- .Bruneton J., 1993.** Pharmiognosie et phytochimie, plantes médicinales, *Tec et Doc La voisier*, (Paris): 278-279, 387-402, 915, 211-338.
- .Bruneton, J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 3eme Ed, Tec &Doc Lavoisier, Paris, pp.1120.
- .Cabrera M ., Simoens M ., Falchi G ., LauraLavaggi M ., Piro O –E. ., Castellano E –E ., Vidal A ., Azqueta A ., Monge A ., Lopez de Cerain A ., Sagra G I ., Seoane G ., Cerecetto H ., Gonzalez M. 2007.** Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral biological evaluation and structure activity relationships. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15:3356-3367
- .Cooper-Driver, G. A., 2001.** Contribution of Jeffrey Harborne and Co-workers to the Study of Anthocyanins. *Phytochemistry*, 56, 229-236.
- .Cowan M.M., 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin.Microbiol Re*, 12 (4): 564-582.
- .Crozier, K. R. & Moran, G. R. 2006.** Heterologous expression and purification of kynurenine-3- monooxygenase from *Pseudomonas fluorescens* strain 17400. *Protein Expr Purif* 51, 324-333.
- .Cuendet M. 1999.** Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : *fagraea blumel* (Lloganiaceae) et de trois plantes d'altitude : *Bartsia alpina* (Scorphiariaceae), *Loiseleuria procumbens* (Ericaceae) et *Campanula barbata* (Campanulaceae). Thèse de doctorat. Faculté des sciences de l'Université de Lausanne, p. 24.
- 
-

## *Les références bibliographiques*

---

---

- .Cushnie , T.P., Hamilthoh, V.E.S., Lamb, A.J.2003.** Assessment of the antimicrobial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol. Res*,158 (4): 281-9.
- .Delafontaine P et Balmadier J. 1966.** Manuel de l'élève-infirmière, éd. Médicales, Flammarion, Paris, pp.25-28
- .Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N.2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97 : 654–660.
- .Dulger B. et Gonuz A. 2004.** Antimicrobial activity of some turkish medicinal plants. *Pakistan journal of biological sciences.*, 7 (9) : 1559-1562.
- .Edenharder R., Grünhage D.,2003.** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumenehydroperoxide in *Salmonella typhimurium*TA102. *Mutat. Res*, 540: 1–18.
- .Elqaj M., Ahami A., Belghyti D.2007.** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- .Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M. 2007.** Chemistry and pharmacology of oxypropenylated secondary plant metabolites, Review. *Phytochemistry* 68, 939- 953.
- .Ferrari J. 2002.** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elle : *Gnidia involucrata* Steud. A. Rich. Thèse de doctorat de l'Université de Lausanne.
- .Formica J-V et Regelson W. 1995.**Review of the Biology of quercétin and related Bioflavonoids.*Fd Chem.Toxic*, 33:1061-1080.
- .Galeotti F., Barile E ., Curir P., Dolci M ., Lanzotti V. 2008.** Flavonoids from carnation (*Dianthus caryophyllus*) and their antifungal activity. *Photochemistry Letters*, 1: 44-48.
- .Guingard, J. ; 1996.** Biochimie végétale, Ed. Lavoisier, Paris.
- .Halim, A.F ., Saad, H., Lahloub, M.F., Ahmed, A.F. (1995).**Pituranthoside from *Pituranthos Triradiatus*. *Phytochemistry*, 40 (30), 927-929.
- .Harbone J.B., 1993.** Introduction to Ecological Biochemistry, 4th Ed; Academic Press, (London): 323.
- .Hartmann T. 2007.** From waste products to ecochemicals : Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. 68 :2831-2846.
- .Havsteen B.H., 2002.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Ther. Nov-Dec*, 96 (2-3): 67-202.
- 
-

**Hemingway R.W., 1992.** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: *Lpant polyphenols: synthesis, proprieties, significande.* Hemingway R.W, Laks P.E, (New York): 34.

**Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F., 2004.** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6. **Mompon B., Lemaire B., Mengal P., Surbled M., 1998.** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. Ed. INRA, (Paris): 145-149.

**Ho, S.C., Tsai, T.H., Tsai, P.J., Lin, C.C. 2008.** Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. *Food and Chemical Toxicology*. **46**: 920-928.

**Jelpo M-T-L ., Bosile A ., Miranda R ., Moscatiello V., Nappo C ., Sorbio S ., Laghi E ., Ricciardi M-M ., Ricciardi L ., Vuotto ML.2000.** Immunopharmacological properties of flavonoids. *Fitoterapian*, **71**:101-109.

**Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deelesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A. 2001.** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.

**Kaabeche, M. 1990.** Les groupements végétaux de la région de Bou saad (Algérie). Essai de synthèse sur la végétation steppique du Maghreb. *Thèse de Doctorat* en sciences, Université de Paris Sud, Centre d'Orsay, 93.

**Karumi Y., Onyeyili PA., Ogugbuaja VO., 2004.** Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*. **4**(3):179-182.

**Koffi, N., Beugré, K., Guédé, N., Zirihi, D. & Laurent, A., 2009.** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature* **6** (1), 1-15.

**Kolter R and. Bloemberg G. V., Otool G. A., Lugtenberg B. J. J . 1997.** Green fluorescent protein as a marker for *Pseudomas* spp. *Appl. Environ. Microbiol*. **63**: 4543- 4551.

**Lesueur, D., Serra D.de Rocca, Bighelli, A., Hoi, T.M., Ban, N.K., Thai, T.H., Casanova, J.; 2007.** Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Meryll ex Dandy from Vietnam. *Flavour and Fragrance Journal*, (22) 317-321.

**Macheix J., Fleuriet A., Jay–Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses poly technologiques et universitaires romandes: 4-5.

**Malec, L.S. & Pamilio, A.B., 2003.** Herbivory effects on the chemical constituents of *Bromus pictus*. *Molecular Medicinal Chemistry* **1**, 30-38.

---

---

## *Les références bibliographiques*

---

---

- .Mann J., Davidson R. S., Hobbs J. B., Banthorpe D. V., Harborne J. B., 1994.** Natural Products. Longman, *Ch,7*: 389.
- .Marfak A., 2003.** Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES.187 p.
- .Mauro N., 2006.** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, Thèse de docteur en chimie, université joseph fourier grenoble I: 15-16.
- .Mbaveng A-T ., Ngameni ,Kueté V ., Simo I-K ., Ambassi P ., Roy R ., Bezabih M ., Etoa F-X ., Ngadjui B-T ., Abegaz B-M ., Meyer J-J-M ., Lall N ., Beng V-P.2008.**Antimicrobial activity of crude extracts and five flavonoids from the twigs of *Dorstenia barteri* (Moraceae).*Journal of Ethnopharmacology*,**116**:483-489.
- .Mellouk.K. 2013.**Thèse : Étude des activités antioxydante et antimicrobienne des flavonoïdes et des fractions flavoniques de la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* (Guezzeh) de la région de Biskra
- .Milane H. 2004.** La quercétine et ses derives: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. These de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I.155p.
- .Mogode., 2005.**These : Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum* Perr. ex DC (*Combretaceae*) P : 29.
- .Mojab, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N. & Vahidipour, H.R., 2003.** Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 77-82.
- .Moreira M.R., Ponce A.G., Del Valle C.E., Roura S.I. 2005.** *Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen.* LWT. 38 p 565-570. 47
- .Mundina, M., Vila, R., Tomi, F., Gupta, M. P., Adzet, T., Casanova, J., Canigueral, S., 1998.** *Leaf essential oils of three panamanian piper species.* *Phytochemistry* 47, 1277-1282.
- .N. Nait Said; .2007.** Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes: *Pituranthos chluranthos* et *Marrubium vulgare*. Mémoire de Magister, Université EL-Hadj Lakhdar-Batna, Algérie.
- .Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R., Krishna D. R., 2001.** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33 : 2-16.
- .O’Kennedy R., Thornes R.D., 1997.** Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action. John Wiley et Sons Inc. N.Y.*Pharmacol.Therapeut*, (New York) 96: 67– 202.
- 
-

## *Les références bibliographiques*

---

- .Oloyede, O.I., 2005.** Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*, *Pakistan journal of nutrition* **4**, 379-381.
- .Ousslah M ; Caillet S ; Saucier L ; Lacroix M. 2007.** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. **18**, 414-420.
- .Ozanda P. 1991.** Flore et végétation du Sahara. (3<sup>ème</sup> édition, augmentée). Ed. CNRS, Paris : 662 p.
- .Ozenda P. 2006.** Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer, *Journal of Ethnopharmacology* (**105**) 358–367.
- .Patrick B., Jean L., and Michel S. 1988.** Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1<sup>er</sup> Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. pp: 100-108-274.
- .Petit P., Granier T., Langlois d'Estaintot B., Manigand C., Bathany K., Schmitter J-M., ;Lauvergeat V., Hamdi S., Gallois B. 2007.** Crystal Structure of grape dihydroflavonol 4-reductase, a key enzyme in flavonoid biosynthesis. *J. Mol. Biol*, **368**:1345-1357
- .Ponce G., Fritz R., Delvalle C., Roura S., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. **36**, 679-684.
- .Quzel P., Santa S. 1963.** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome 1, Tome 2). Ed du centre national de la Recherche Scientifique.
- .Richard C et Kiredjian M., 1995.** Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Brucella*, *Bordetella*. 2<sup>ème</sup> édition. Ed Institut. Pasteur .Paris. pp: 42-43.
- .Rizk, A.M. 1982.** Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia*, **52** (2): 35-42.
- .Sarni-Manchado P., Cheynier V., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier: 2-10.
- .Shirley, B. W., 1996.** Flavonoid biosynthesis: a new function for an old pathway. *Trends in plant science* **1**, 377-382.
- .Smith, M. A., Perry, G., Richey, P. L., Sayre, L. M., Anderson, V. E., Beal, M. F., et al. 1996.** Oxidative damage in Alzheimer's [letter]. *Nature*, **382**: 120.
- .Steven. P., Rachel. C., Martha. E., Paul. H., Jane. S., and Peter W.J. (2004).** *Microbiology of Waterborne Diseases*. Ed Elsevier Academic Press. pp71-132.
- .Tenover F C (2006).** Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American Journal of Medicine*, **119** (6), 3-10.
- .V. Hammiche, K. Maiza; 2006.** Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology* **105** 358–367
-

## *Les références bibliographiques*

---

**.Vermerris W., Nicholson R. 2006.** Phenolic compound biochemistry. *Springer, Dordrecht*. ISBN: 1001-4020-5163-8.

**.Vila, R., Milo, B., Tomi, F., Casanova, J., Ferro, E. A., Canigueral, S., 2001.** Chemical composition of the essential oil from the leaves of *Piper fulvescens*, a plant traditionally used in Paraguay. *J Ethnopharmacol* 76, 105-107.

**.Yao. L .H., Jiang Y.M., SHI J., Tomas-Barberan F.A., Datta N., Singanusong R., Chen S.S., 2004.** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant.Food Human.Nutrition*, 59: 113-122.

---

## Annexes

### Annexe I : Composition du milieu Mueller-Hinton :

Extrait de viande de boeuf : 2.0g.

Peptone de caséine : 17.5g.

Amidon de maïs : 1.5g.

Agar : 17.0g.

pH : 7.4.

### Annexe II : Réactifs de caractérisation

#### Alcaloïdes

La caractérisation des alcaloïdes se fait par :

**Réactif de Mayer** : la préparation de ce réactif s'effectue comme suit :

- Dissoudre 1,358 g de HgCl<sub>2</sub> dans 60 ml d'eau ;
- Dissoudre 5 g de KI dans 10 ml d'eau ;
- Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml d'eau.

Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité blanc

**Réactif de Wagner** : ce réactif a été préparé comme suit :

- Dissoudre 2 g de KI et 1,27 de I<sub>2</sub> dans 75 ml d'eau ;
- Ajuster le volume total à 100 ml d'eau.

Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun

---

## Annexe

---



Photos prises pendant la préparation la préparation des activités anti bactériennes

---

## Annexe

---



**Photos prises pendant la préparation la préparation des activités anti bactériennes**

---

## Résumé

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de molécules biologiquement active. La présente étude a porté sur les flavonoïdes et les fractions flavoniques des graines de *Pituranthos scoparius* qui appartient à la famille des Apiacées, une des familles la plus importante de la flore d'Aurès algérienne.

Le screening phytochimique, nous avons pu mettre en évidence la présence des tanins, des flavonoïdes, des stéroïdes et des coumarines.

Les rendements les plus élevés sont de l'ordre de 02.8 % pour l'extrait aqueux et 0.55 % pour la fraction d'acétate d'éthyle. Pour les Fraction butanolique, Fraction l'éther de pétrole et l'extrait méthanolique brut, les rendements sont de 0.055, 0.024 et 0.024 % respectivement.

La quantification des flavonoïdes dans les extraits (EBR, FAQ, FEB, FAC et FBU) égale à (2.33, 0.58, 1.42, 1.03, 2.3 mg EQ/ g E) respectivement.

L'évaluation de l'activité antibactérienne, est réalisée en adoptant la méthode des disques par un test de sensibilité de quatre souches bactériennes, deux gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) et deux gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et *Escherichia coli* (ATCC 25922), elle a révélé une puissante activité des différents extraits, surtout l'acétate est la fraction la plus importante dont le diamètre d'inhibition le plus élevé (17.5 et 16.5mm) est observé pour *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) respectivement .

A partir de ces résultats, nous retiendrons que les extraits des graines de *Pituranthos scoparius* exercent un effet antibactérien. Donc, la plante peut être une source prometteuse de nouvelles substances antibactériennes.

**Mots clés :** *Pituranthos scoparius*, activité antibactérienne, flavonoïdes.

---

## **Abstract**

The natural extracts Plants from contain a variety of biologically active molecules. The present study focused on flavonoids and flavonoid fractions seeds *Pituranthos scoparius* which belongs to the Apiaceae family, one of the largest families of the Algerian Aures flora.

The phytochemical screening, we were able to demonstrate the presence of tannins, flavonoids, steroids and coumarins.

The highest yields are of the order of 02.8% for the aqueous extract and 0.55% for the ethyl acetate fraction. For butanol fraction, Fraction petroleum and crude methanol extract, yields are 0.055, 0.024 and 0.024%, respectively,.

Quantification of flavonoids in extracts (EBR, FAQs, FEB, FCC and FBU) equal to (2.33, 0.58, 1.42, 1.03, 2.3 mg EQ / g E) respectively.

The evaluation of the antibacterial activity is carried out by adopting the method of the discs by susceptibility testing of four bacterial strains, two gram-positive: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) and two gram-negative *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) and *Escherichia coli* (ATCC 25922), it showed potent activity of different extracts, especially acetate is the most important fraction, the highest inhibition diameter (17.5 and 16.5mm) is observed at *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) respectively.

From these results, we will retain the extracts of the seeds of *Pituranthos scoparius* exert an antibacterial effect. So the plant can be a promising source of new antibacterial substances.

**Keywords:** *Pituranthos scoparius*, antibacterial activity, flavonoids.

---

## الملخص

تحتوي المستخلصات النباتية الطبيعية على كم هائل و متنوع من الجزيئات النشطة بيولوجيا. ركزت هذه الدراسة على الفلافونويدات و أجزاءها في بذور نبات *Pituranthos scoparius* الذي ينتمي إلى العائلة الخيمية، من أكبر عائلات نباتات جبال الأوراس الجزائري.

الفرز الكيميائي أثبت وجود كل من: الدباغ والفلافونويدات، والمنشطات والكومارينات. المردودية العالية كانت 02.8 % للمستخلص المائي و 0.55 % للمستخلص أسيتات الايثيل، أما المستخلص البيتانولي، المستخلص ايثر البترول و المستخلص الميثانولي الخام فالمردودية (0.024, 0.024, 0.055 % ) على التوالي. الدراسة الكمية للفلافونويدات في المستخلصات (المستخلص الميثانولي الخام، للمستخلص المائي، المجزأ ايثر البترول، المجزأ أسيتات الايثيل، المجزأ البيتانولي) هي على الترتيب : (2.33, 0.58, 1.42, 1.03, 2.3) مغ ما يعادل/غ (مستخلص).

بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا، اختبرنا أربعة سلالات بكتيرية، اثنان موجبة الغرام: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) , *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) , و اثنان سالبة الغرام: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) , *Escherichia coli* (ATCC 25922) باستعمال طريقة الأقراص التي تحدد السلالات التي تبدي حساسية، التي أظهرت فعالية مختلف المستخلصات. خاصة المستخلص اسيتات الايثيل هو الأكثر أهمية و فاعلية، حيث بين أكبر قطر تثبيط بـ: (17.5 و 16.5 مم) و الذي تمت ملاحظته عند (ATCC 43300) و *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) على الترتيب.

من خلال هذه النتائج تبين أن مستخلصات بذور نبات *Pituranthos scoparius* تتميز بتأثير مضاد للبكتيريا. وبالتالي هذه النبتة يمكن أن تكون مصدرا واعداد مواد جديدة ذات نشاط مضاد للبكتيريا.

**الكلمات المفتاحية:** *Pituranthos scoparius* , النشاط المضاد للبكتيريا , الفلافونويدات.

## Résumé

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de molécules biologiquement active. La présente étude a porté sur les flavonoïdes et les fractions flavoniques des graines de *Pituranthos scoparius* qui appartient à la famille des Apiacées, une des familles la plus importante de la flore d'Aurès algérienne.

Le screening phytochimique, nous avons pu mettre en évidence la présence des tanins, des flavonoïdes, des stéroïdes et des coumarines.

Les rendements les plus élevés sont de l'ordre de 02.8 % pour l'extrait aqueux et 0.55 % pour la fraction d'acétate d'éthyle. Pour les Fraction butanolique, Fraction l'éther de pétrole et l'extrait méthanolique brut, les rendements sont de 0.055, 0.024 et 0.024 % respectivement.

La quantification des flavonoïdes dans les extraits (EBR, FAQ, FEB, FAC et FBU) égale à (2.33, 0.58, 1.42, 1.03, 2.3 mg EQ/ g E) respectivement.

L'évaluation de l'activité antibactérienne, est réalisée en adoptant la méthode des disques par un test de sensibilité de quatre souches bactériennes, deux gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) et deux gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et *Escherichia coli* (ATCC 25922), elle a révélé une puissante activité des différents extraits, surtout l'acétate est la fraction la plus importante dont le diamètre d'inhibition le plus élevé (17.5 et 16.5mm) est observé pour *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) respectivement .

A partir de ces résultats, nous retiendrons que les extraits des graines de *Pituranthos scoparius* exercent un effet antibactérien. Donc, la plante peut être une source prometteuse de nouvelles substances antibactériennes.

**Mots clés :** *Pituranthos scoparius*, activité antibactérienne, flavonoïdes

## Abstract

Plants from the natural extracts contain a variety of biologically active molecules. The present study focused on flavonoids and flavonoid fractions seeds *Pituranthos scoparius* which belongs to the Apiaceae family, one of the largest families of the Algerian Aures flora.

The phytochemical screening, we were able to demonstrate the presence of tannins, flavonoids, steroids and coumarins.

The highest yields are of the order of 02.8% for the aqueous extract and 0.55% for the ethyl acetate fraction. For butanol fraction, Fraction petroleum and crude methanol extract, yields are 0.055, 0.024 and 0.024%, respectively.

Quantification of flavonoids in extracts (EBR, FAQs, FEB, FCC and FBU) equal to (2.33, 0.58, 1.42, 1.03, 2.3 mg EQ / g E) respectively.

The evaluation of the antibacterial activity is carried out by adopting the method of the discs by susceptibility testing of four bacterial strains, two gram-positive: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) and two gram-negative *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) and *Escherichia coli* (ATCC 25922), it showed potent activity of different extracts, especially acetate is the most important fraction, the highest inhibition diameter (17.5 and 16.5mm) is observed *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) respectively.

From these results, we will retain the extracts of the seeds of *Pituranthos scoparius* exert an antibacterial effect. So the plant can be a promising source of new antibacterial substances.

**Keywords:** *Pituranthos scoparius*, antibacterial activity, flavonoids.

## المخلص

تحتوي المستخلصات النباتية الطبيعية على كم هائل و متنوع من الجزيئات النشطة بيولوجيا. ركزت هذه الدراسة على الفلافونويدات و أجزائها في بذور نبات *Pituranthos scoparius* الذي ينتمي إلى العائلة الخيمية، من أكبر عائلات نباتات جبال الأوراس الجزائري.

الفرز الكيميائي أثبت وجود كل من: الدباغ و الفلافونويدات، والمنشطات و الكومارينات.

المردودية العالية كانت 02.8 % للمستخلص المائي و 0.55 % للمستخلص أسيتات الايثيل، أما المستخلص البيتانولي، المستخلص ايثر البترول

و المستخلص الميثانولي الخام فالمردودية (0.024, 0.024, 0.055 % ) على التوالي.

الدراسة الكمية للفلافونويدات في المستخلصات (المستخلص الميثانولي الخام، للمستخلص المائي، المجزأ ايثر البترول، المجزأ أسيتات الايثيل، المجزأ

البيتانولي) هي على الترتيب : (2.33, 0.58, 1.42, 1.03, 2.3 مغ ما يعادل/غ مستخلص).

بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا، اختبرنا أربعة سلالات بكتيرية، اثنان موجبة الغرام: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923),

*Escherichia coli* (ATCC 25922) و اثنان سالبة الغرام: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) التي أظهرت فعالية مختلف المستخلصات. خاصة المستخلص اسيتات الايثيل هو الأكثر

أهمية و فاعلية، حيث بين أكبر قطر تثبيط ب: (17.5 و 16.5م) و الذي تمت ملاحظته عند (ATCC 43300) و (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) على الترتيب.

من خلال هذه النتائج تبين أن مستخلصات بذور نبات *Pituranthos scoparius* تتميز بتأثير مضاد للبكتيريا. وبالتالي هذه النبتة يمكن أن تكون مصدرا و اعدا لمواد جديدة ذات نشاط مضاد للبكتيريا.

**الكلمات المفتاحية:** *Pituranthos scoparius* , النشاط المضاد للبكتيريا , الفلافونويدات.