

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Centre Universitaire Salhi Ahmed de Naâma



Institut des Sciences et Technologies

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de

Master Académique en microbiologie appliquée

Thème

**Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de deux
plantes médicinales dans la région de Naâma (*Rhus
tripartitum* Ucria & *Micromeria debilis* Pomel)**

Par : BENSLIMANE Soulaf & TALBI Amina

Soutenu le : 19 Juin 2019

Soutenu publiquement, devant le jury:

Président : Mr. BOURAHLA Lamé M.C.B

Encadreur : Mr. GHERIB Mohammed M.C.A

Examineurs : Mr. MAROUF Abderrezzak Pr.

Mr. SEDDIKI Mohammed EL Habib M.C.A

Année Universitaire 2018/2019



Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr « GHERIB Mohammed », on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier tout particulièrement Dr « BOURAHLA.L » d'avoir accepté de présider le jury. Nous exprimons nos vifs remerciements à Monsieur le Pr « MAROUF.A » et Dr « SEDDIK.M » d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Nous tenons également à remercier Monsieur « BOUAFIA.M » pour leur aide et leur encouragements.

Un grand merci aux membres des Labo Biologie (SNV) : « Daifallah.S », Mr « Lairedj.O » et M^{elle} « Benaata.F », ainsi que toutes nos amies de la promotion, pour leur aide, leur amitié, leur gentillesse et leur soutien moral. Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A decorative border featuring green vines, leaves, and butterflies. A large, colorful butterfly is at the top left, and a blue butterfly is at the top right. The border frames the central text.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leur amour inestimable, leur confiance, leur soutien, leurs sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

Mes chers frères: Nasre Addin, Abdel Hadi et Abdel Rahman, j'espère que la vie leur donnera tout le meilleur.

Ainsi qu'à tous les membres de ma famille et à mon cher fiancé et à mes chers voisins, la famille Darbale qui m'ont soutenu par une bonne parole.

Et à mes chers amis avec qui j'ai passé de beaux moments avec eu lors des études Iman, Khadija, Hadjira et Siham.

Tous mes chers amis de la promotion de la microbiologie appliquée Pour leur soutien et leur amitié aussi mes collègues pour leur aide et l'ambiance Chaleureuse qui nous a réuni dans se travail.

Mon cher binôme Soulaf qui partagé avec moi tous les moments.

Amina



Dédicace

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limite de mes chers parents qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui.

À la lumière brillante qui illumine ma vie, au symbole d'amour et de tendresse, à ma chère mère Khadija et mon cher père Djamel. J'espère que dieu vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

Mes chères sœurs : Zhor, Aya et mes chers frères Abdel Latif et Mohammed et le mari de ma sœur Mohammed Ayachi, j'espère que la vie leur donne le meilleur.

Tous mes chers amis qui m'ont soutenu et à mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université : Ahlam, Amel, Hanan, Houda et Souad.

Tous mes belles papillons, de la promotion de la microbiologie appliquée à leur soutien et à leur amitié, ainsi que de l'aide qui nous a réunis dans ce travail. Mon chère binôme Amina qui partagé avec moi tous les moments dans mes études.

Soulaf

Liste des abréviations

ATCC : Américain Type Culture Collection.

BAW : (n-butanol/ acide acétique/eau).

CAT : Catalase

CCE : Commission des Communautés Européennes

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CEN : *Collège des Enseignants de Neurologie.*

CEQ : Equivalent catéchine.

CFN : Conservation des forêts de Naama.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

DD : Death Domain

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

DMSO : Diméthylsulfoxyde

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

EBLSE : Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu

GAE : Equivalent acide gallique.

GPx : Glutathion peroxydase.

LPS : LipoPolySaccharides.

NCCSL : National Committee for Clinical Laboratory Standards.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PDA : Potato dextrose agar

pH : *potentiel hydrogène*

Rf : Rapport frontal.

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthéciline

SOD : SuperOxyde Dismutase

UFC : Unité Formant Colonie.

UV : Rayonnement *ultraviolet*

Liste des figures

Figure 1.	Structures des acides cinnamique et benzoïque.....	6
Figure 2.	Structure de base des flavonoïdes.....	7
Figure 3.	Structure de coumarine.....	7
Figure 4.	Exemple d'alcaloïdes : la morphine.....	9
Figure 5.	Photo de <i>Rhus tripartitum</i>	10
Figure 6.	Photo de <i>Micromeria debilis</i>	13
Figure 7.	Cibles de l'action des antibiotiques.....	17
Figure 8.	Action des enzymes antioxydantes sur la cascade radicalaire.....	22
Figure 9.	Parties séchées de <i>Rhus tripartitum</i>	25
Figure 10.	Parties séchées de <i>Micromeria debilis</i>	25
Figure 11.	Position géographique des stations de récolte des plantes étudiées.....	27
Figure 12.	Montage de disposition pour extraction par décoction.....	29
Figure 13.	Décantation, filtration et récupération de filtrat et évaporation du l'extrait dans un évaporateur rotatif.....	30
Figure 14.	Cuve de CCM.....	31
Figure 15.	Schéma d'extraction et analyse par CCM des flavonoïdes.....	32
Figure 16.	Méthode de dosage des polyphénols.....	33
Figure 17.	Méthode de dosage des flavonoïdes.....	34
Figure 18.	Rendement des extraits secs des deux espèces <i>Rhus tripartitum</i> et <i>Micromeriadebilis</i>	39
Figure 19.	Révélation de la plaque de CCM.....	41
Figure 20.	Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits méthanoliques de plante <i>Rhus tripartitum</i>	43
Figure 21.	Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits méthanoliques de Plante <i>Micromeria debilis</i>	44
Figure 22.	Activité des antibiotiques contre les bactéries.....	45
Figure 23.	Activité des antibiotiques contre les champignons.....	46

Figure 24.	L'activité des antibiotiques sur les microorganismes testés.....	46
Figure 25.	Effet des extraits (tiges et racines) de <i>Rhus tripartitum</i> sur la souche <i>Bacillus cereus</i>	48
Figure 26.	Effet des extraits (feuilles, tiges et racines) de <i>Rhus tripartitum</i> sur la souche <i>Staphylococcus aureus</i>	48
Figure 27.	Effet des extraits (feuilles, tiges et racines) de <i>Rhus tripartitum</i> sur la souche <i>Candida albicans</i>	48
Figure 28.	Effet de l'extraits (feuilles, tiges) de <i>Rhus tripartitum</i> sur la souche <i>Penicillium</i>	49
Figure 29.	Effet de l'extrait (tiges) de <i>Rhus tripartitum</i> sur la souche <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i>	49
Figure 30.	Effet des extraits (feuilles, tiges e) de <i>Micromeria debilis</i> sur la souche <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Figure 31.	Effet des extraits (tiges) de <i>Micromeria debilis</i> sur la souche <i>Bacillus cereus</i>	52
Figure 32.	Effet des extraits (racines) de <i>Micromeria debilis</i> sur la souche <i>Penicillium</i>	53
Figure 33.	Effet des extraits (feuilles) de <i>Micromeria debilis</i> sur la souche <i>Fusarium oxysporum</i>	53
Figure 34.	Pouvoir antioxydant des extraits falvonoiques de <i>Rhus tripartitum</i>	56
Figure 35.	Pouvoir antioxydant des extraits falvonoiques de <i>Micromeria debilis</i> et acide ascorbique.....	58

Liste des tableaux

Tableau 1.	Situation géographique et étage bioclimatique des différentes stations de récolte des plantes étudiées.....	26
Tableau 2.	Différentes souches microbiennes testées.....	26
Tableau 3.	Produits chimiques et appareillages utilisés dans la présente étude.....	28
Tableau 4.	La séparation des composés phénoliques par CCM de <i>Rhus tripartitum</i> et <i>Micromeria debilis</i> (Système solvant BAW. support : gel de Polyamide)...	40
Tableau 5.	Diamètres des zones d'inhibition en (mm) d'un extrait méthanolique des parties de <i>Rhus tripartitum</i> vis-à-vis des souches bactériennes.....	47
Tableau 6.	Diamètres des zones d'inhibition en (mm) d'un extrait méthanolique des parties de <i>Rhus tripartitum</i> vis-à-vis des souches fongiques.....	47
Tableau 7.	Diamètres des zones d'inhibition en (mm) d'un extrait méthanolique des parties de <i>Micromeria debilis</i> vis-à-vis des souches bactériennes.....	51
Tableau 8.	Diamètres des zones d'inhibition en (mm) d'un extrait méthanolique des parties de <i>Micromeria debilis</i> vis-à-vis des souches fongiques.....	51
Tableau 9.	Puissance anti radicalaire des extraits méthanoliques de <i>Rhus tripartitum</i> et de l'acide ascorbique.....	56
Tableau 10.	Puissance anti radicalaire des extraits méthanoliques de <i>Micromeria debilis</i> et de l'acide ascorbique.....	59

Table des Matières

Introduction

Introduction	1
--------------------	---

Partie Bibliographique

Chapitre I : Phytothérapie et plantes médicinales

Phytothérapie et plantes médicinales

I.1. Définition de la Phytothérapie.....	5
I.2. Plantes médicinales.....	5
I.3. Métabolites secondaires des plantes.....	5
I.3.1. Composés phénoliques.....	6
I.3.2. Saponosides	8
I.3.3. Alcaloïdes.....	8

Chapitre II : Plantes étudiées

II.1. <i>Rhus tripartitum</i>	10
II.1.1. Description botanique, répartition géographique et habitats.....	10
II.1.2. Classification.....	11
II.1.3. Utilisation traditionnelles et propriétés pharmaceutique.....	11
II.1.4. Activités biologiques de la plante.....	12
II.2. <i>Micromeria debilis</i>	13
II.2.1. Description botanique, répartition géographique et habitats.....	13
II.2.2. Classification.....	14
II.2.3. Utilisation traditionnelles et propriétés pharmaceutique.....	14

Chapitre III : Activité antimicrobiennes et antioxydante

III.1. Activité antimicrobiennes.....	15
III.1.1. Généralités.....	15

III.1.2. Infections microbiennes.....	15
III.1.3. Définition de l'activité antimicrobienne	15
III.1.4. Antibiotiques.....	16
III.1.4.1. Définition.....	16
III.1.4.2. Classification des antibiotiques.....	16
III.1.4.3. Sensibilité et résistance aux antibiotiques.....	16
III.1.4.4. Modes d'action des antibiotiques.....	17
III.1.5. Description les microorganismes étudiés.....	17
III.1.5.1. Bactéries.....	17
III.1.5.2. Levures.....	20
III.1.5.3. Moisissures.....	20
III.2. Activité antioxydante.....	20
III.2.1. Stress oxydatif.....	21
III.2.2. Radicaux libres.....	21
III.2.3. Mécanisme de l'oxydation.....	21
III.2.4. Système antioxydant.....	21
III.2.4.1. Système antioxydant enzymatique.....	22
III.2.4.2. Système antioxydant non enzymatique.....	22
III.2.5. Maladies liées au stress oxydatif.....	23

Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I.1. Matériel végétal.....	25
I.1.1. Matériel biologique.....	25
I.1.1.1. Matériel végétal.....	25
I.1.1.2. Souches microbiennes testées.....	26
I.1.2. Matériel non biologique.....	28
I.1.2.1. Milieux de culture utilisé	28
I.1.2.2. Antibiotiques et antifongiques utilisés	28

I.1.2.3. Matériel de laboratoire.....	28
I.2. Méthodes	29
I.2.1. Extraction.....	29
I.2.1.1. Préparation des extraits bruts.....	29
I.2.2. Calcul des rendements.....	30
I.2.3. Préparation des extraits fractionnés par l'acétate d'éthyle et le n-butanol.....	30
I.2.4. Analyse chromatographie (CCM).....	31
I.2.5. Analyse phytochimique.....	33
I.2.5.1. Dosage des phénols totaux	33
I.2.5.2. Dosage des flavonoïdes.....	34
I.2.6. Tests d'évaluation de l'effet antimicrobien.....	35
I.2.6.1. Technique de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme).....	35
I.2.6.2. Activité antifongique.....	36
I.2.7. Activité antioxydante.....	36
I.2.7.1. Estimation du pouvoir antiradicalaire par la méthode au DPPH.....	36
I.2.8. Etude statistique.....	38

Chapitre II : Résultats et Discussion

II.1. Rendement des extraits secs des deux espèces <i>Rhus tripartitum</i> et <i>Micromeria debilis</i>	39
II.2. Analyse chromatographie (CCM).....	40
II.2.1. Mise en évidence du pool flavonique chez <i>Rhus tripartitum</i> et <i>Micromeria debilis</i>	41
II.3. Dosages de polyphénols et des flavonoïdes.....	42
II.3.1. Teneur en phénols totaux et flavonoïdes des extraits de <i>Rhus tripartitum</i>	43
II.3.2. Teneur en phénols totaux et flavonoïdes des extraits de <i>Micromeria debilis</i>	44
II.4. Activité antimicrobienne	45

II.4.1.Sensibilité aux antibiotiques et aux antifongiques.....	45
II.4.2. Pouvoir antimicrobien des extraits de la plante <i>Rhus tripartitum</i>	47
II.4.3. Pouvoir antimicrobien des extraits de la plante <i>Micromeria debilis</i>	51
II.5. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl).....	54
Conclusion générale	60
Références bibliographiques	63
Annexes	77

Résumé :

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales de la région de Naama (*Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis*), par l'extraction qui se fait par décoction de différentes parties obtenus en utilisant le méthanol. Les rendements des extraits bruts de *Rhus tripartitum* sont de l'ordre de 38.22% (graines), 22% (feuilles et racines) et 19.21% (tiges) pour *Micromeria debilis* c'est 20.54 % (feuilles) et environ 10% (tiges et racines). L'analyse par Chromatographie sur couche Mince des extraits méthanolique des deux plantes a permis de révéler la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes. L'estimation quantitative des polyphénols totaux, Les résultats ont révélé des fortes teneurs considérables dans les racines de *Rhus tripartitum* 497.17 mg GAE/g suivi par les autres parties, alors que les teneurs modérées ont été enregistrée ; dans les différentes parties tiges, racines et feuilles d'extraits *Micromeria debilis* à l'ordre de 129.10, 122.02 et 65.22 mg GAE/g respectivement. Les flavonoïdes totaux ont été évalués par l'utilisation d' $AlCl_3$, les teneurs sont 174.93 (racines), 132.06 (tiges) mg CEQ/g d'extraits de *Rhus tripartitum* et dans l'extrait de *Micromeria debilis* les teneurs sont similaires de 51.57 (feuilles), 47.97 (tiges) et 40.12 (racines). L'activité antimicrobienne est moyenne dans les tiges et les racines de *Rhus tripartitum* et dans les tiges de *Micromeria debilis*. L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage de radical libre DPPH• des extraits méthanoliques a montré que l'ensemble des extraits d'acétate d'éthyle de *Rhus tripartitum* possèdent un pouvoir antioxydant comparable à celle de l'acide ascorbique (IC_{50} environ **3.53** $\mu\text{g/ml}$). Par ailleurs l'extrait d'acétate d'éthyle de tige du *Micromeria debilis* a présenté une activité vis-à-vis du radical libre DPPH• avec $IC_{50} = \mathbf{6.34}$ $\mu\text{g/ml}$.

- **Mots clés :** *Rhus tripartitum*, *Micromeria debilis*, composés phénoliques, flavonoïdes, activité antioxydant, activité antimicrobienne.

ملخص :

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للميكروبات ومضادات الأكسدة لنبتتين الطبيين في منطقة نعمة (*Rhus tripartitum* و *Micromeria debilis*) ، عن طريق الاستخلاص بغليان من أجزاء مختلفة تم الحصول عليها باستخدام الميثانول. مردود المستخلصات الخام من *Rhus tripartitum* هي في حدود 38.22 ٪ (البذور) ، 22 ٪ (الأوراق والجذور) و 19.21 ٪ (السيقان). بالنسبة لـ *Micromeria debilis* ، تبلغ 20.54 ٪ (الأوراق) وحوالي 10 ٪ (السيقان والجذور). كشف تحليل كروماتوغرافي على الورق الرقيق للمستخلصات الميثانولية من كلا النباتين وجود مركبات الفينول والفلافونويد. كشفت نتائج التقدير الكمي لمجموع البوليفينول ، عن وجود مستويات عالية كبيرة في جذور *Rhus tripartitum* 497.17 mg GAE / g ، في حين تم تسجيل مستويات معتدلة في مختلف مستخلصات أجزاء السيقان والجذور و الأوراق *Micromeria debilis* في حدود 129.10 ، 122.02 و 65.22 ملغ GAE / جم على التوالي. تم تقييم مجموع الفلافونويد بالطريقة باستخدام $AlCl_3$ ، في 174.93 (جذور) ، 132.06 (ينبع) مقتطفات CEQ / جم من *Rhus tripartitum* وفي مستخلص *Micromeria debilis* ، تتشابه المحتويات في 51.57 (أوراق) ، 47.97 (ينبع) و 40.12 (جذور). كان نشاط المضاد للمكروبات ملحوظا في كل السيقان والجذور لـ *Rhus tripartitum* وفي سيقان *Micromeria debilis*. أظهر تقييم نشاط مضادات الأكسدة بواسطة طريقة مسح الجذور الحرة DPPH للمستخلصات الميثانولية أظهرت أن جميع مستخلصات أسيتات الإيثيل في *Rhus tripartitum* لها قدرة مضادة للأكسدة مماثلة لتلك الموجودة في حمض الأسكوربيك (IC_{50}) حوالي 3.53 ميكروغرام / مل). بالإضافة إلى ذلك ، أظهر مستخلص أسيتات الإيثيل من جذع *Micromeria debilis* نشاطاً فيما يتعلق بالجذور الحرة DPPH • مع $IC_{50} = 6.34$ ميكروغرام / مل.

• **الكلمات المفتاحية:** *Rhus tripartitum* ، *Micromeria debilis* ، المركبات الفينولية ، الفلافونويدات ، نشاط مضادات الأكسدة ، نشاط مضادات الميكروبات.

Abstract :

The objective of this study was to evaluate the antimicrobial and antioxidant activity of the two medicinal plants in the Naama region (*Rhus tripartitum* and *Micromeria debilis*), by extracting boiling (decoction) from different parts obtained using methanol. The yield of crude extracts from *Rhus tripartitum* is 38.22% (seeds), 22% (leaves and roots) and 19.21% (stems). For *Micromeria debilis*, it is 20.54% (leaves) and about 10% (stems and roots). Thin layer chromatography of methanolic extracts from both plants revealed phenol and flavonoid compounds. The results of the quantitative estimate of total polyphenols revealed high levels of *Rhus tripartitum* 497.17 mg GAE / g followed by other parts, while moderate levels were recorded in various extracts of stems, roots and leaves *Micromeria debilis* in 129.10, 122.02 and 65.22 mg GAE / G respectively. The total flavonoids were evaluated by the AlCl₃, the contents are 174.93 (roots), 132.06 (Yanbu) extracts of CEQ / g from *Rhus tripartitum* and in *Micromeria debilis* extract, similar in 51.57 leaves, 47.97 stems and 40.12 roots. Antimicrobial is average in the stems and roots of the *Rhus tripartitum* and in the legs of *Micromeria debilis*. The evaluation of antioxidant activity by DPPH for methanolic extracts showed that all ethyl acetate extracts in *Rhus tripartitum* had an antioxidant capacity similar to those found in ascorbic acid (IC₅₀ of about 3.53 µg / mL). In addition, the ethyl acetate extract from the *Micromeria debilis* stem was shown to be active with respect to the free roots DPPH • with IC₅₀ = 6.34 µg / mL.

• **Keywords:** *Rhus tripartitum*, *Micromeria debilis*, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity, antimicrobial activity.



Introduction

En Algérie, le marché pharmaceutique est en nette progression, puisque l'Algérie compte viser le développement de la production locale et devenir une plateforme de production nationale, sachant qu'une large part du marché repose sur les importations avec un chiffre qui avoisine les 70 %. Nous citons, l'exemple des médicaments à base de plantes qui ont une importance considérable dans le commerce international. La reconnaissance de leur valeur clinique, pharmaceutique et économique continue de croître (**Bouzabata, 2017**).

Les données concernant l'innocuité et l'efficacité des plantes, leurs extraits et principes actifs et les préparations qui les contiennent restent encore limitées. L'Algérie possède une réserve de remèdes à base de plantes, de savoir-faire dans la médecine traditionnelle. L'importance de cette médecine est tributaire de la diversité spécifique de la flore locale présente et du savoir détenu par les tradipraticiens sur l'usage médicinal des plantes concernées (**Tabuti et al., 2003**).

D'après les dernières années, l'apparition des effets secondaires de certains médicaments, la toxicité des antioxydants synthétiques et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques ont augmenté le risque des effets néfastes des radicaux libres et des microorganismes sur la santé humaine, ses effets ont conduit à la recherche à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse. (**Al-Hajj et al., 2014**).

Ces molécules naturelles sont les métabolites secondaires qui ont des fonctions très importantes pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent, comme signaux chimiques, pour défendre leur producteur contre les herbivores et les pathogènes, comme ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance), certaines assurent une protection contre les radiations solaires et d'autre encore facilitent la dispersion du pollen et des graines (**Bruneton, 2009**).

Les métabolites secondaires sont aussi très exploités par l'homme dans les différents domaines : dans le domaine culinaire comme colorants et arômes, dans le domaine agricole comme herbicides et dans le domaine médicinal comme antibiotiques, antioxydants, drogues.....etc. (**Bruneton, 1993 ; Krief, 2003**).

C'est pourquoi le présent travail a été entrepris afin de mettre en exergue les vertus de *Rhus tripartitum* (Ucria) Grande et *Micromeria debilis* (Pomel).

La présente étude a pour objectif l'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante des différentes parties des deux plantes.

En effet notre travail est reparti en deux parties :

- Partie bibliographique qui est devisée en trois chapitres ;
 - Le premier, où nous apportons des généralités sur la phytothérapie, plantes médicinales et métabolites secondaires des plantes.
 - Le deuxième chapitre est consacré à une description des plantes étudiées,
 - Enfin le troisième chapitre est sur l'activité antibactérienne et antioxydante.
- La deuxième partie est l'étude expérimentale, devisée en deux chapitres,
 - Le premier est la description des matériels et méthodes utilisées dans la réalisation de ce travail.
 - Le deuxième chapitre est consacré à l'étude des résultats et discussion et enfin à une conclusion générale.



Partie
Bibliographique

Chapitre I :

Phytothérapie et plantes médicinales

I.1. Définition de la Phytothérapie

Le mot phytothérapie se compose étymologiquement de deux racines grecques : "phyton" et "therapeuein" qui signifient respectivement "plante" et "soigné" (**Rwangabo, 1993**) donc définie comme l'application thérapeutique des plantes (**Laccourreya et al., 2016**). Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle, fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes, en tout ou en partie (fleur, feuille, tige, racine) ou en extrait de décoction, distillat, huile essentielle. L'ingestion de produits végétaux peut être envisagé en deux grands axes: une vision holistique de l'effet de plantes sur l'individu dans son ensemble, et une vision plus scientifique axée sur l'action des plantes sur symptômes de la maladie et la recherche des molécules actives, qui est le point de vue du phytothérapeute (**Laccourreya et al., 2016**).

I.2. plantes médicinales

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) près de 80% de populations dépendent de la médecine traditionnelle. Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité comme remèdes pour le traitement des diverses maladies (**khaldi et al., 2012**) et la plupart des plantes sont utilisées empiriquement et sans validation scientifique de leur efficacité et sécurité (**Moutinho, 2013**).

Les plantes médicinales sont utilisées directement comme agents thérapeutiques, donc elles sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration de médicaments. Les plantes supérieures produisent des composés chimiques divers avec différentes activités biologiques et rôles écologiques importants qui servent des mécanismes de défense chimique contre les insectes, herbivores et micro-organismes (**Iserin, 2001**).

I.3. Métabolites secondaires des plantes

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (**Marouf et Requand, 2007**). Ils 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.) (Bourgaud, 2013).

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies (Hartmann, 2007). Ils sont divisés principalement en trois grandes familles: les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Marouf et Requand, 2007).

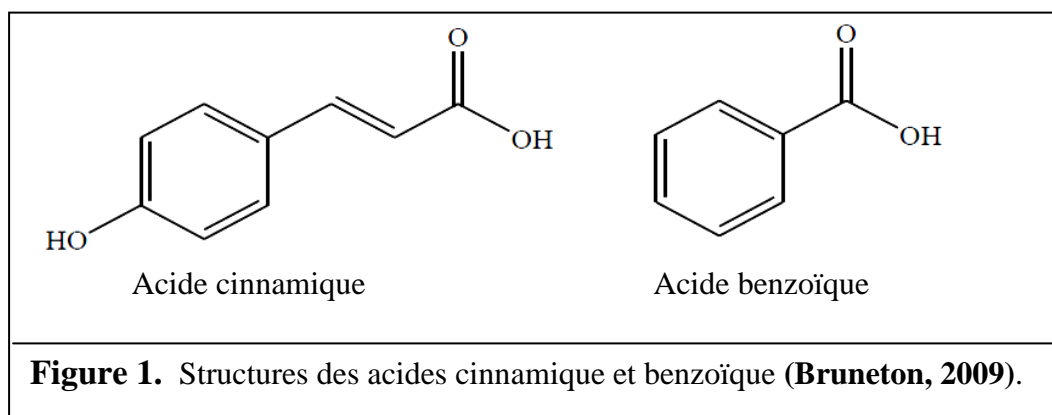
I.3.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal, et sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (Yusuf, 2006).

Les polyphénols sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés, et sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient (Manallah, 2012).

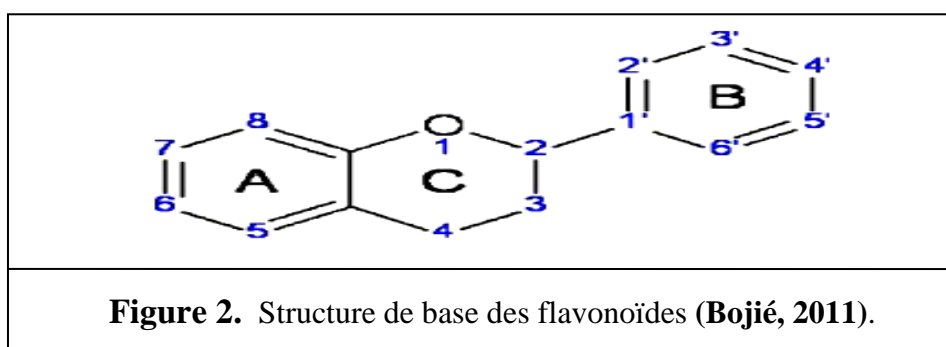
❖ Acides phénoliques

Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (Belyagoubi et Benhammou, 2011).



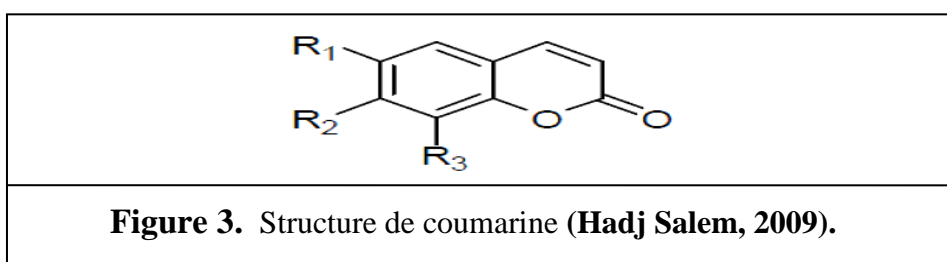
❖ Flavonoïdes

Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de la couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles (**Midoun, 2011**). Ce sont les composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane C6-C3-C6 ; les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné. Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont les flavones, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les auronones et les anthocyanes (**Kone, 2009**).



❖ Coumarines

Elles dérivent des acides hydroxy-cinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale (**Macheix et al., 2005**). Près de 1000 composés cumoniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes (**Kone, 2009**).



❖ Anthocyanes

Le terme d'anthocyane, initialement forgé pour désigner la substance responsable de la coloration des fleurs du bleuet, s'applique à un groupe de pigments hydrosolubles responsables de la coloration rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette de la plupart des fleurs et des fruits (**Bruneton, 2009**), et changent de couleur en fonction de

leur pH. Les anthocyanes sont issus de l'hydrolyse des anthocyanides (flavonoïdes proches des flavones) (Iserin, 2007).

❖ Tanins

Les tannins (ou tanins) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir (Bruneton, 1999). Ce sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (Kamra et al., 2006), ils peuvent former des complexes avec les protéines grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (Amlan et Patra, 2010). Deux groupes de tanins différant aussi bien par leur structure que par leur origine biogénétique sont distingués : les tanins hydrolysables et les tanins vrais. Certains tanins auraient des propriétés antioxydants (Michellin, 2009).

I.3.2. Saponosides

Les saponosides sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans des nombreuses plantes (Çolak et al., 2009). Le mot saponine est dérivé du mot latin « sapo ». Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon (Hart et al., 2008). Les saponines sont des glycosides à poids moléculaires élevé, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules tri-terpéniques ou stéroïdes. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou tri-terpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile (Wallace, 2004). La plupart des saponosides possèdent des propriétés hémolytiques et sont toxiques à l'égard des animaux à sang froid, principalement les poissons (Bruneton, 2009).

I.3.3. Alcaloïdes

Le terme «alcaloïde» a été introduit par W. Meisner au début du XIX^{ème}. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (Badiaga, 2011).

Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Ainsi, la nicotine, produite dans les

racines, migre vers les feuilles où elle est diméthylée. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (**Krief, 2003**). Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques (**Mauro, 2006**).

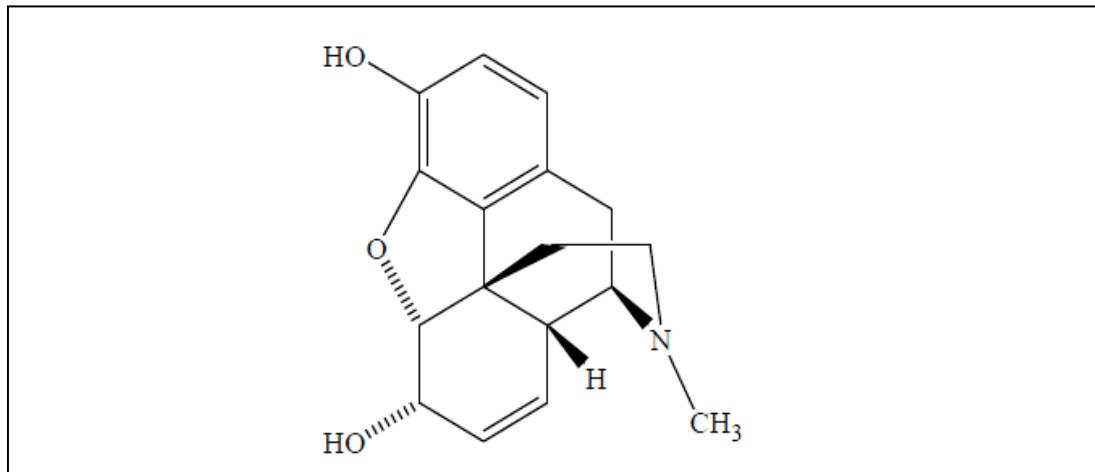


Figure 4. Exemple d'alcaloïdes : la morphine (**Osbourn et Lanzotti, 2009**).

Chapitre II :

Plantes étudiée

II.1 *Rhus tripartitum*

Les Anacardiaceae sont une famille composée de noix et de fruits économiquement importants, elle comprend 860 espèces réparties en 83 genres (**Christenhusz et Byang, 2016**). elles sont bien connue par leur utilisation dans les aliments et en médecine moderne et traditionnelle (**Lee et al., 2010; Wu et al., 2013**).

Les genres les plus importants dans le monde des anacardiacées sont: *Anacardium*, *Continus*, *Mangifera*, *Pistacia*, *Rhus (Sumac)*, *schinopsis*, *schinus*, *tapirira*, *Toxicodendron* (**Rodolphe et al., 2004**).

II.1.1. Description botanique, répartition géographique et habitats

Le genre *Rhus* est représenté par deux espèces: *Rhus tripartitum* (Ucria) grande et *Rhus pentaphylla*, l'espèce *Rhus tripartitum* possède plusieurs noms vernaculaires selon les régions. On trouve cette espèce à l'état spontané dans tout le bassin méditerranéen et dans d'autre régions chaudes, et pousse souvent dans des régions non viables sur le plan agricole (**Le Floc'h et Boulous, 2008**).

Ce sont des arbustes et de petits arbres pouvant atteindre une hauteur de 1 à 10 m. Les feuilles sont disposées en spirale, bien que certaines espèces aient des feuilles trifoliées ou simples. Les fleurs sont groupées en panicules denses ou des épis 5-30 cm de long, chaque fleur est très petite, verdâtre, blanc crémeux ou rouge, avec cinq pétales. Les fruits forment des grappes denses de drupes rougeâtres appelées sumac bobs (**Hernández et al., 2009**).



Figure 5. *Rhus tripartitum*

II.1.2. Classification

Classification botanique	
Règne :	Végétal
Embranchement :	Phanérogames
Sous-embranchement :	Angiospermes
Classe :	Magnoliopsida (Eudicot)
Ordre :	Sapindales
Famille :	Anacardiaceae
Genre :	<i>Rhus</i>
Espèce :	<i>Rhus tripartitum</i>
Noms Vernaculaires	
<p>Communément appelés sumacs en France ou simmecks par les Libanais. Le nom générique <i>Rhus</i> était en usage chez les Grecs et les Romains (Ozenda, 1991).</p> <p style="text-align: center;">Arabe : تيزق, تيزغ Nouvel : <i>Searsia tripartita</i> Synonymes : <i>Rhus oxyacantha Schousb</i></p>	

II.1.3. Utilisation traditionnelles

- ✚ Les feuilles fraîches et les bourgeons peuvent être mâchés éteindre la soif, cela fait saliver et donne l'impression d'eau dans la bouche.
- ✚ Le fruit est consommé frais ou stocké, ou ajoutés à l'eau pour un goût rafraîchissant (**Le Floc'h et Boulous, 2008**).
- ✚ Pour les abcès dentaires : écraser des feuilles, mettre la pâte sur l'abcès pour le faire éclater.
- ✚ Les écorces sont pilées pour faire une poudre utilisée pour soigner les aphtes. Son bois est utilisé pour faire du charbon (faire attention, car celui-ci expose dans le feu), et même les écorces des racines sont utilisées pour tanner les peaux et les colorer en rouge (**Rached, 2009**).
- ✚ Traitement des troubles gastro-intestinaux, y compris la diarrhée et pour la dysenterie (**Abbassi et Hani, 2012**).
- ✚ Utiliser comme épices par les générations précédentes.

- ✚ Certaines études montrent qu'on peut utiliser *Rhus tripartitum* pour les rhumatismes, les troubles mentaux, le diabète, les hémorroïdes et l'ulcère gastrique (**Alimi et al., 2013**).
- ✚ Les propriétés antipaludique, antivirale, antimicrobienne, antitumorigène et athérosclérose pour ces espèces ont été signalées (**Ahmed et al., 2001; Choi et al., 2012; Lee et al., 2010**).

II.1.4 Activités biologiques de la plante

Des extraits aqueux de graines, de feuilles et de racines de *Rhus tripartitum* riches en tanins, en flavonoïdes et en coumarines ont montré une activité anticholinestérasique importante pouvant être utilisée pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (**Ben Mansour et al., 2011**).

Des travaux récents sur *R. tripartitum* ont indiqué que l'extrait de cortex de racine, riche en proanthocyanidines avec la présence de (+) catéchine, de (-) épicatechine-3-ogallate, d'oligomères et de polymères proanthocyanidiques, présentait une activité antioxydante élevée et empêchait la mort des thymocytes induits par le DD (mort induite par le DD) chez le rat (**Tebourbi et al., 2006**).

Une nouvelle masazinoflavonone biflavonoïde et la calodénone isobiflavonoïde ont été isolées à partir d'extraits aériens méthanoliques de cette espèce (**Mahjoub et al., 2006**) qui ont également montré des activités antibactériennes, antifongiques et anti-inflammatoires (**Abbassi et Hani, 2011**).

II.2. *Micromeria debilis*

Parmi les plantes aromatiques qui sont utilisées dans la médecine traditionnelle il y a les plantes de la famille Lamiaceae qui comprend 6500 espèces « sont des plantes herbacées et sous-arbustes répartis dans le monde entier » (Chenni, 2016) et parmi les genres étudiés de cette famille il y a les *Micromeria* qui sont des plantes aromatiques utilisées dans le monde comme un calmant de certaines maladies (Marinkovic et al., 2002) et dans notre cas on va étudier l'espèce *Micromeria debilis*.

II.2.1. Description botanique, répartition géographique et habitats

L'espèce *Micromeria debilis* se trouve en Afrique appelé anciennement *Satureja briquetii* Maire . « Le genre *Satureja* a été un sujet de controverse parmi les taxonomistes et il est traité différemment ». Il est caractérisé par une forme de sous-arbrisseau éricoïde qui porte une tige dressée ramifiée et des feuilles ovales lancéolées très long que large. Ces plantes aromatiques sont plus utilisées dans la médecine populaire (Irani et al., 2014)

Les métabolites secondaires de cette plante ont des activités biologiques anti-inflammatoire, antioxydant, antiphytoviral, activités antibactériennes et antifongiques (Chandra et al., 2013 ; Formisano et al., 2014), activités pharmacologiques, y compris anesthésique, antiseptique (Gulluce et al., 2004).



Figure 6. *Micromeria debilis*

II.2.2. Classification

Classification botanique	
Règne :	Végétale
Embranchement :	Phanérogames
Sous-embranchement :	Angiospermes
Classe :	Magnoliopsida (Eudicot)
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiaceae
Genre :	<i>Micromeria</i>
Espèce :	<i>Micromeria debilis</i>
Noms Vernaculaires	
Arabe :	نعناع صيادة, نعناع لخلا
Synonymes :	Satureja briquetii Maire (nom ancien)

II.2.3. Utilisation traditionnelles

- ✚ l'espèce *Micromeria debilis* utilisée comme un traitement du rhume, les douleurs abdominales, contre les infections oculaires et même contre hypertension artérielle et des troubles cardiaques dans la région de Naama.
- ✚ Elle est utilisée contre les maux de tête, douleurs abdominales, plaies, yeux et infections cutanées (Gulluce et al., 2004).

Chapitre III :

Activité antimicrobiennes et antioxydante

III.1. Activité antimicrobienne

III.1.1. Généralité

Toujours dans cet ordre d'idées, des métabolites secondaires de diverses plantes restent d'un grand intérêt pour la valorisation des ressources naturelles végétales.

En fait, leurs utilisations potentielles comme remèdes alternatifs dans le traitement de nombreuses maladies infectieuses et comme moyens de préservation des aliments contre les processus d'oxydation ont été soulignés dans la littérature scientifique, les études expérimentales ont été rapporté que les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes possèdent une activité antimicrobienne (Tim et al., 2005), et d'autre propriétés variées comme les anti-tumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires (Muanda, 2010).

III.1.2. Infections microbiennes

Les maladies infectieuses représentent la cause majeure de mortalité dans le monde; ce sont des affections provoquées par des microorganismes pathogènes telles que les bactéries, les virus, les parasites ou les champignons et touchent des millions de personnes dans le monde (Alwash et al., 2013). Mais les infections microbiennes sont rarement des protozoaires, quelques fois des champignons (*Aspergillus*, *Cryptococcus*), des levures (*Candida*) et parfois des virus (hépatites, herpès, grippe). On retrouve très souvent des bactéries ou leurs formes altérées, dont l'apparition est favorisée par l'usage des antibiotiques : bactéries à Gram positif tel que *Staphylococcus*, *Enterococcus* et bactéries à Gram négatif comme les *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Proteus sp*, *Klebsiella sp*.....) et *Pseudomonadaceae* (Haxhe et Zumofen, 1999).

III.1.3. Définition de l'activité antimicrobienne

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections (CCE, 2001). Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : bactériostatique ou bactéricides.

III.1.4. Antibiotiques

III.1.4.1. Définition

Les antibiotiques sont des substances chimiques, élaborées par des micro-organismes ou par synthèse chimique, capables d'inhiber la multiplication (bactériostatique) ou de détruire (bactéricide) des bactéries.

Les antibiotiques ont pour but de diminuer ou de stabiliser la quantité de bactéries présentes au niveau du site infectieux et d'aider les cellules du système immunitaire à entamer le processus de guérison.

III.1.4.2. Classification des antibiotiques

On a proposé plusieurs bases de classification, selon la structure chimique, selon le mécanisme d'action, selon l'effet chimiothérapeutique.

La classification suivante est la plus fréquemment rencontrée: Bêtalactamines: pénicillines et céphalosporines; Aminosides: streptomycine, gentamicine, etc; Chloramphénicol et thiamphénicol; Cyclines: tétracyclines, doxycycline, etc ; Macrolides et apparentés: érythromycine oléandomycine, etc ; Polypeptides cycliques: polymyxine, etc ; Rifamycines: rifampicine; Antibiotiques divers (Cohen et Jacquot, 2008).

III.1.4.3. Sensibilité et résistance aux antibiotiques

La résistance est un phénomène naturel qui survient lorsque les bactéries qui produisent des antimicrobiens tentent de se protéger contre ces mêmes qu'on commence à utiliser les antimicrobiens en médecine humaine et que cette résistance << intrinsèque >> reflète l'adaptation évolutive des bactéries aux toxines naturelles présentes dans l'environnement.

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes. Parmi les bactéries multiresistantes, les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et les *Enterobacteries* productrices de β -lactamases à spectre élargi (EBLSE) sont les plus préoccupants à cause de leur pouvoir pathogène élevé, leur prévalence au sein des hôpitaux ainsi que dans le milieu communautaire (Philippon, 2008).

III.1.4.4. Modes d'action des antibiotiques

Les 4 principaux modes d'actions des antibiotiques sont:

- ✚ Inhiber la synthèse de la paroi bactérienne, c'est-à-dire inhiber la synthèse du peptidoglycane.
- ✚ Inhiber la synthèse de la membrane cytoplasmique.
- ✚ Inhiber la synthèse de l'ADN bactérien.
- ✚ Inhiber la synthèse de protéines bactériennes.

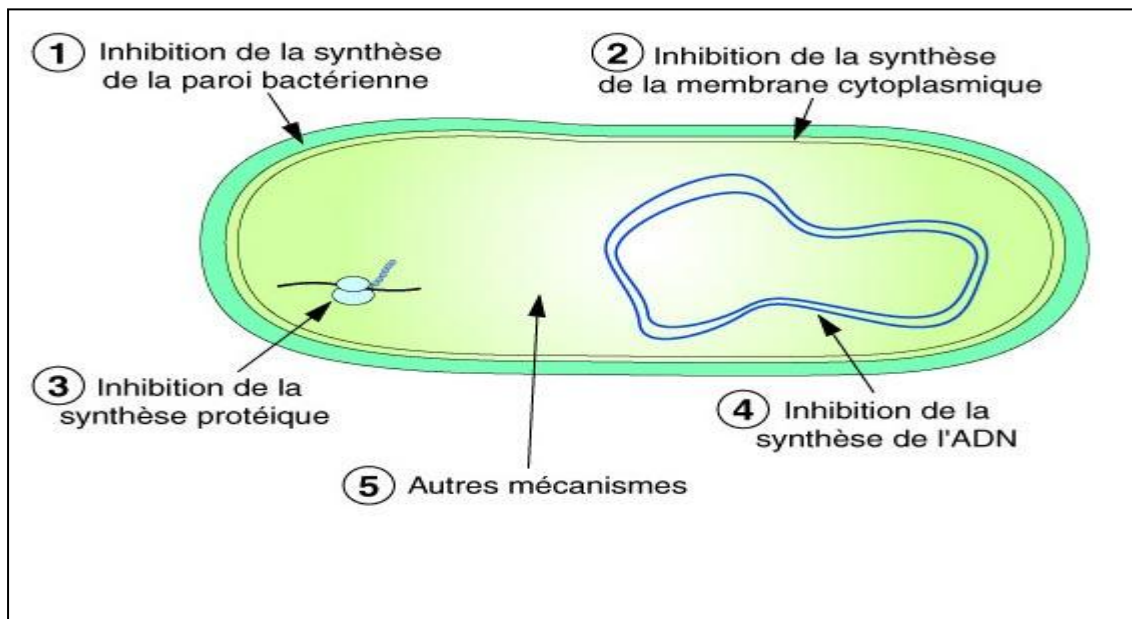


Figure 7. Cibles de l'action des antibiotiques (Pibiri, 2006).

III.1.5. Description des microorganismes étudiés

III.1.5.1. Bactéries

a. *Escherichia coli*

E. coli est un bacille à gram négatif (Patrick et al., 1988), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm (Steven et al., 2004). Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être

responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies (**Patrick et al., 1988**).

b. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa est une bactérie mono-flagellée à Gram négative, présente dans divers environnements et souvent dans l'eau (**Méar et al., 2013**). Elle est responsable d'environ 10% à 20% des infections nosocomiales et possède de multiples mécanismes de résistance qui sont encodés dans les chromosomes intrinsèques, y compris, le développement des pompes multi-résistantes à la pénétration des médicaments, la production de β -lactamases et les enzymes de modification des aminosides (**Mahmoud et al., 2013**), la faible perméabilité de l'enveloppe cellulaire et sa grande capacité d'adaptation, permettant la colonisation rapide aux différents environnements (**Jimenez et al., 2012**).

c. *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des Moraxellaceae (**Wendpoulomdé et al., 2016**). Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont ubiquitaires (eau, sol, végétaux, etc.). Chez l'homme, les *Acinetobacter* font partie de la flore saprophyte cutanée de la peau saine et sont souvent retrouvés dans les localisations humides (creux axillaires, aines, espaces interdigitaux). Depuis quelques décennies, les bactéries du genre *Acinetobacter* ont été impliquées dans de nombreuses maladies infectieuses. Bien qu'elles soient principalement associées aux infections nosocomiales, elles ont également été impliquées dans des cas d'infections acquises communautaires (**Joshi et al., 2013**). Leur grande résistance à de nombreux antibiotiques rend le traitement de ces infections difficile.

d. *Staphylococcus aureus*

Le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) est l'un des agents pathogènes les plus importants pour l'homme. C'est une bactérie anaérobie, à Gram positif, de forme sphérique avec un diamètre de 0.8 à 1 μm . Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *S. aureus* produisent un pigment jaune doré (**Patrick et al., 1988**). Elle peut causer de nombreuses maladies; d'infections cutanées mineures à des maladies mortelles, telles que les abcès, la pneumonie, la méningite, endocardite, la septicémie, l'arthrite septique, l'ostéomyélite, infections intra-vasculaires (**Chang et al., 2013**).

e. Bacillus cereus

Bacillus cereus est un agent pathogène d'origine alimentaire commun et important que l'on peut trouver dans divers produits alimentaires. En raison de la stérilisation à basse température pendant une courte période temps, la pasteurisation ne suffit pas pour éliminer complètement *B. cereus* dans le lait, causant ainsi de graves pertes économiques et des problèmes de sécurité alimentaire (Gao et al., 2018).

C'est une bactérie à Gram-positif, mobile, sporulée en forme de bâtonnet. Associé à deux types distincts de gastro-intestinal troubles, le syndrome diarrhéique et émétique (Jebberger et al., 2014 ; Li et al., 2016), après la consommation d'un aliment contaminé, qui contient plus que 10^4 – 10^5 spores ou cellules végétatives de *B. cereus* par gramme (Jensen et al., 2003; Bamnia et Kaul, 2015).

f. Bacillus subtilis

Le genre *Bacillus* correspond à des bactéries en forme de bâtonnets (1,2 à 10 µm de long), chimio-hétérotrophes, généralement mobiles (présence de flagelles péritriches), habituellement présentes dans le sol. Ce sont des bactéries aérobies strictes ou facultatives. (Prescott et al., 2010). *B. subtilis* est « l'espèce type » du genre et la bactérie Gram-positif la plus étudiée. Son génome a ainsi été l'un des premiers à être complètement séquencé. En réponse à des conditions défavorables, ces bactéries ont donc la capacité de former par enkystement des endospores (appelées spores dans ce mémoire) métaboliquement inactives et qui peuvent survivre sous cette forme plusieurs millions d'années (Nicholson et al., 2000). En effet, lorsque les conditions redeviennent favorables pour la croissance, la spore peut retourner à son état végétatif (via la germination) et coloniser l'environnement par multiplication. Ces spores représentent une préoccupation majeure des industries alimentaires, car elles sont responsables de détérioration d'aliments et de toxi-infections alimentaires en raison de leur haute résistance aux procédés de conservation des aliments. Les spores bactériennes sont également connues pour être des agents infectieux animaux et humains (Pauline, 2013).

g. Listeria monocytogenes

Le genre *Listeria* comporte 8 espèces dont l'espèce *monocytogenes*, petit bacille (0,5 - 2 µm x 0,5 µm), Gram positif, isolé ou en chaînettes, mobile à 20-25 °C, non sporulé. Aéro-anaérobie facultatif (Hirsch, 2000).

La bactérie *L. monocytogenes* est très répandue dans la nature. On la trouve dans le sol, l'eau, la végétation et les déjections de certains animaux. Elle peut ainsi contaminer les aliments (OMS, 2018). Cette bactérie peut également être présente dans le tractus intestinal des animaux et de l'homme sous forme de portage asymptomatique. Elle est l'agent étiologique de la listériose, une infection grave d'origine alimentaire affectant essentiellement les personnes immunodéprimées, les personnes âgées et les femmes enceintes (Emilie, 2007).

III.1.5.2. Levures

- *Condida albicans*

C. albicans, souvent associé à un champignon microscopique, est un micro-organisme de la famille des levures qui appartient à la flore commensale des individus sains. Elle existe à l'état saprophyte habituellement dans les épithéliums muqueux des mammifères en particulier sur les muqueuses digestives et génitales. Le passage de la levure à un stade pathogène est favorisé par un certains nombre de conditions comme le changement dans les facteurs écologiques tels que l'utilisation d'antibiotiques à large spectre ou des médicaments immunosuppresseurs (Méar et al., 2013).

III.1.5.3. Moisissures

- a. *Fusarium oxysporum*

F. oxysporum sont des champignons ascomycètes de la famille des Nectriaceae, responsables de la pourriture racinaire (Ashokvardhan et al., 2014), dont certaines sont des agents pathogènes majeurs véhiculés par le sol de plantes économiquement importantes. Les membres du complexe d'espèces *F. oxysporum* sont omniprésents dans le sol et ont été trouvés dans un large éventail d'écosystèmes (Kang, 2014).

- b. *Penicillium sp*

P. sp sont des champignons filamenteux ubiquitaires, fait partie des Deutéromycètes (champignons imparfaits, reproduction asexuelle) (Nguyen, 2007). Ces espèces sont des contaminants typiques des céréales de stockage et même ils ont utilisé pour la lutte biologique vis-à-vis quelque champignon tel qu'*Alternaria solani* (Hassine et al ; 2014).

III.2. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules du corps contre les dommages causés par les radicaux libres (Mokrani et al., 2009). Ils rentrent en compétition avec d'autres substrats oxydables et retardent ainsi ou empêchent l'oxydation de ces substrats (Ladoh et al., 2014). Ils jouent un rôle important dans la prévention des maladies telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension et la maladie d'Alzheimer (Meddour et al., 2011).

III.2.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (Engonga, 2009).

Les dommages oxydants sont réalisés par l'attaque des radicaux libres sur de diverses biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, ayant finalement comme conséquence la dégradation et la mort de cellules (Ghedadha et al., 2015).

III.2.2. Radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte énergie et qui, avant d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent. Ils sont produits dans toutes les cellules de l'organisme tout à fait normalement et en faible quantité dans les mitochondries (Muanda, 2010). L'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs sont souvent appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Favier, 2003)

III.2.3. Mécanisme de l'oxydation

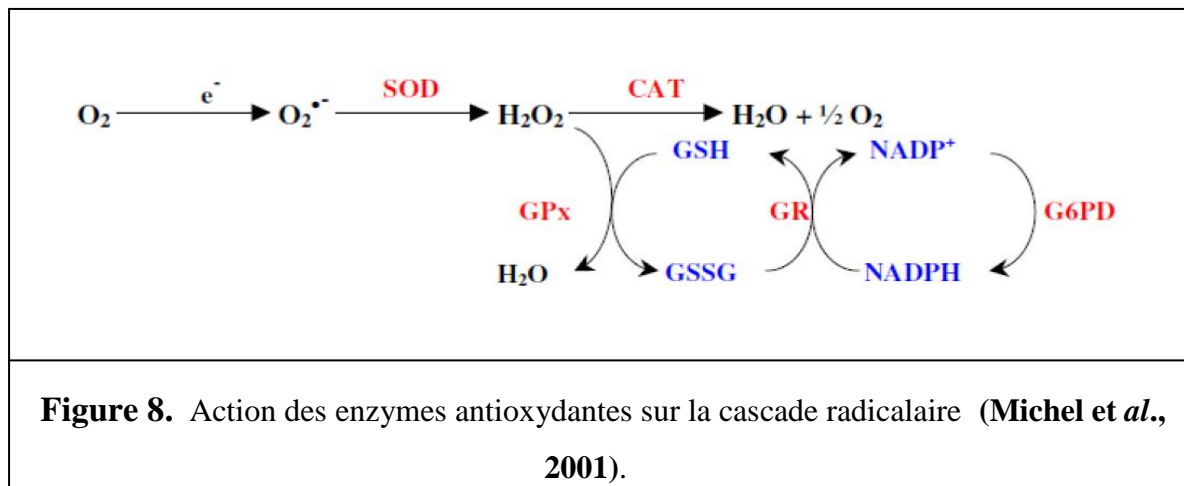
L'oxydation est un phénomène complexe qui met en jeu des espèces moléculaires très réactives et qui se traduit par le rancissement de graisses, la rouille des métaux et la flétrissure des fruits et légumes (Rolland, 2004). Elle est initiée par la lumière, la chaleur, ou les traces de métaux lourds (Cu^{2+} et Fe^{3+}). Cette réaction est au départ très lente, puis s'accélère de façon exponentielle. Elle se déroule en trois étapes : initiation, propagation et terminaison (Bouras, 2004). Les réactions radicalaires sont d'autant plus destructrices qu'elles se propagent en chaîne : les molécules déstabilisées par un électron célibataire deviennent à leur tour des radicaux libres (Manach et al., 2004).

III.2.4. Système antioxydant

Afin de contrer les effets néfastes des ERO, notre organisme possède des molécules à activité antioxydante de nature enzymatique ou non enzymatique (Tabart, 2011).

III.2.4.1. Système antioxydant enzymatique

Il s'agit principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau de O_2^- du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel et al., 2001).



III.2.4.2. Système antioxydant non enzymatique

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation (Kanoun, 2011).

Les meilleurs antioxydants exogènes sont la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et les Polyphénols (N'Guessan et al., 2009).

❖ Vitamine E

Elle semble devoir fixer le radical hydroxyle avec formation d'une molécule d'ouverture de cycle. Elle est retrouvée dans les huiles végétales, les amandes, les graines, le lait, les oeufs, les légumes à feuilles vertes (Muanda, 2010).

❖ Composés phénoliques

Les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires ; ils sont

également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, en pharmaceutique et en cosmétique (**Bougandoura, Bendimerad, 2012**).

III.2.5. Maladies liées au stress oxydatif

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies: cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, Alzheimer, Parkinson, infections intestinales, rhumatisme, l'athérosclérose, le diabète (**Atawodi, 2005**)



Partie
Expérimentale

Chapitre I :

Matériel et méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel biologique

I.1.1.1. Matériel végétal

Les espèces sélectionnées : *Micromeria debilis* et *Rhus tripartitum* ont été récoltées dans leur habitat naturel dans Mograr et Asla de la région de wilaya de Naama, durant le mois de décembre de l'année 2018. (Tableau 1).

Ces plantes sont identifiées par le Monsieur Marouf A (Gherib, 2009).

Les espèces ont été triées, séparées et séchées à l'ombre dans un endroit bien aérée pendant 2 semaines, les parties végétales de chaque plante ont été broyées et pesées. Ensuite elles ont été bien conservées jusqu'à leur utilisation à des fins pratiques.



Figure 9. Parties séchées de *Rhus tripartitum*



Figure 10. Parties séchées de *Micromeria debilis*

a : graines, **b** : feuilles, **c** : tiges, **d** : racines

Tableau 1. Situation géographique et étage bioclimatique des différentes stations de récolte des plantes étudiées

Plantes	Stations	Période de récolte	Parties étudiées	Longitude (Est)	Latitude (Nord)	Altitude (m)	Etage bioclimatique
<i>R. tripartitum</i>	Asla	Décembre 2018	Graines Feuilles Tiges Racines	776315 m Zone 30 N	3653445 m	1061 m	Aride
<i>M. debilis</i>	Moghrar	Décembre 2018	Feuilles Tiges Racines	726746 m Zone 30 N	3599998 m	931 m	Aride. Chaude

I.1.1.2. Souches microbiennes testées

Les souches pathogènes utilisées sont parmi celle qui causent les maladies les plus courantes, ce sont des contaminants alimentaires fréquents, provoquant ainsi des infections hospitalières importantes (pulmonaire, urinaire) (Jensen et al., 2003). Nous avons utilisé dans cette étude des souches de références (Tableau 2).

Tableau 2. Souches microbiennes testées

	Espèces	Références
Bactéries à Gram -	<i>Escherichia coli</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25922 ATCC 19606 ATCC 27853
Bactéries à Gram +	<i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	11778 ATCC 6633 6538 ATCC 9341
Levures	<i>Candida albicans 1</i> <i>Candida albicans 2</i>	IP 444 26790
Moisissures	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>Penicillium.sp</i>	Non référencé Non référencé

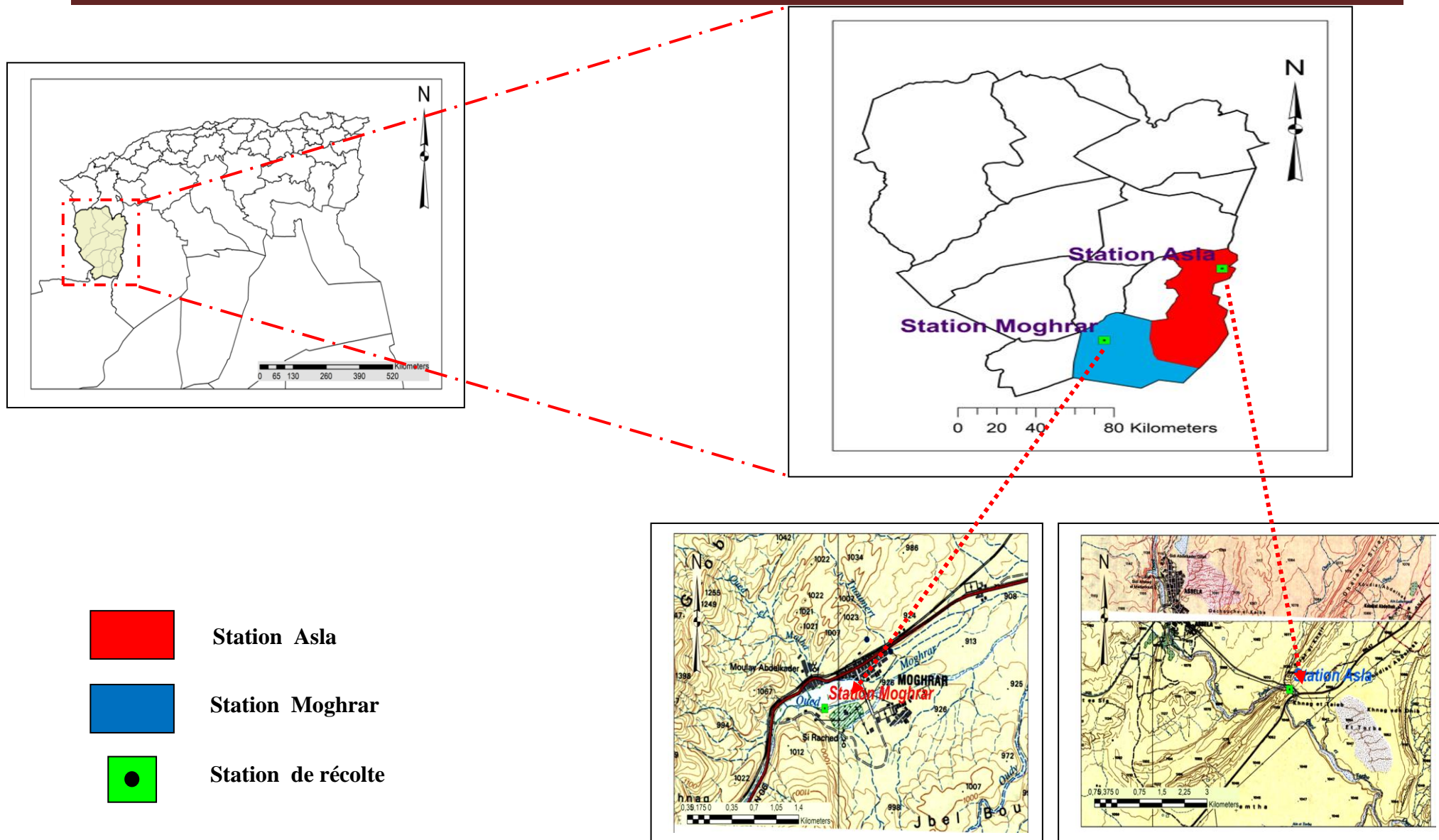


Figure 11. Position géographique des stations de récolte des plantes étudiées (CFN, 2019)

I.1.2. Matériel non biologique

I.1.2.1. Milieux de culture utilisée

Selon les méthodes utilisées dans l'essai et selon les souches, nous avons utilisé les milieux suivants :

- ✚ La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- ✚ Milieu Sabouraud pour l'isolement de *C.albicans*.
- ✚ La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries et les *C.albicans* aux différents extraits.
- ✚ Milieu PDA pour l'isolement et l'entretien des souches fongiques et l'étude de la sensibilité des moisissures.

I.1.2.2. Antibiotiques et antifongiques utilisés

Parmi les nombreux antibiotiques, nous avons choisi trois pour les bactéries : Vancomycine (VA), Penicilline (P1), Amoxicilline (AML 2) et pour les champignons on a utilisé : la nystatine (NY).

I.1.2.3. Matériel de laboratoire

Plusieurs réactifs chimiques et appareillages ont été utilisés dans la présente étude (extraction, dosage et activités biologiques). (Tableau 3).

Tableau 3. Produits chimiques et appareillages utilisés dans la présente étude.

Appareillages	Réactifs chimiques
➤ Autoclave	➤ 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH•).
➤ Balance de précision	➤ Acide gallique
➤ Chauffe ballon	➤ Acide ascorbique
➤ Etuve	➤ catéchine
➤ Micropipettes	➤ Chlorure d'aluminium ($AlCl_3$).
➤ Plaque chauffante	➤ Folin-Ciocalteu.
➤ Evaporateur rotatif (<i>Heidolph</i>)	➤ Solvants (acétate d'éthyle, n-butanol, acide acétique, méthanol, Tween 80, DMSO).
➤ Spectrophotomètre (SpectroScan 40)	
➤ Vortex	

I.2. Méthodes

I.2.1. Extraction

L'extraction est une technique utilisée pour séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange sur la base de leur propriétés chimiques et/ou physiques. il y a plusieurs types d'extraction tel que:

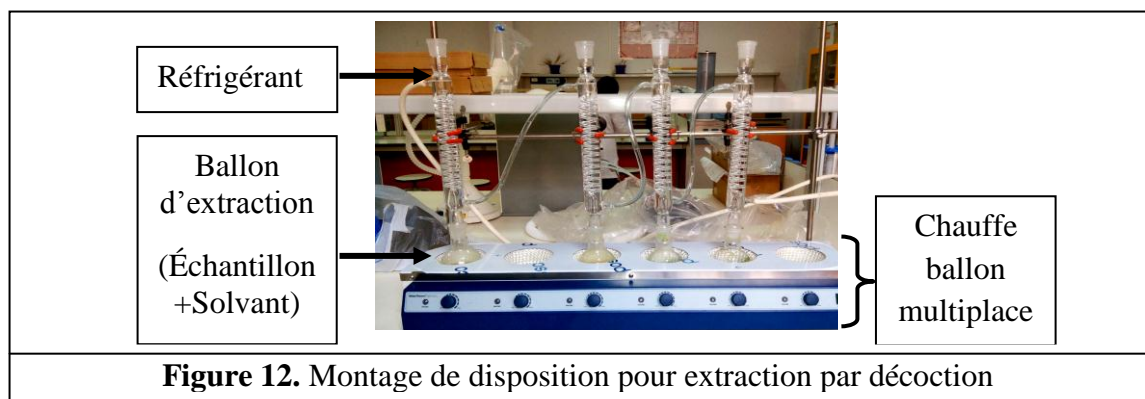
- ✚ Extraction par macération : c'est technique d'extraction solide-liquide qui consiste à laisser la matière première végétale dans un solvant froid (eau, alcool) pendant un temps.
- ✚ Extraction décoction : consiste à faire bouillir la matière première végétale dans l'eau bouillante, afin d'extraire les principes actifs.
- ✚ Extraction par infusion : consiste à verser de l'eau chaude sur la matière végétale, Ensuite il faut laisser reposer quelques minutes et en fermé avec un couvercle.

Dans notre travail, nous avons utilisée l'extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (décoction) (**Konkon et al. , 2006**).

I.2.1.1. Préparation des extraits bruts

- **Mode opératoire**

- ✚ Extraction sous reflux et à (100° C) de 2g de poudre de chaque organe de plante (graines, feuilles, tige, racines) dans un mélange hydro alcoolique (méthanol/eau ; 70ml/30ml v/v) pendant 2 heures. (Figure 14).
- ✚ Filtration de la solution par l'utilisation de papier filtre et récupération du filtrat.
- ✚ L'évaporation à sec de filtrat dans un évaporateur rotatif. (Figure 15).
- ✚ Pesés des résidus sec et reprise
 - Soit dans le méthanol pour les dosages des phénols totaux, flavonoïdes et l'évaluation de l'activité antioxydante.
 - Soit dans le DMSO pour déterminer l'activité antimicrobienne



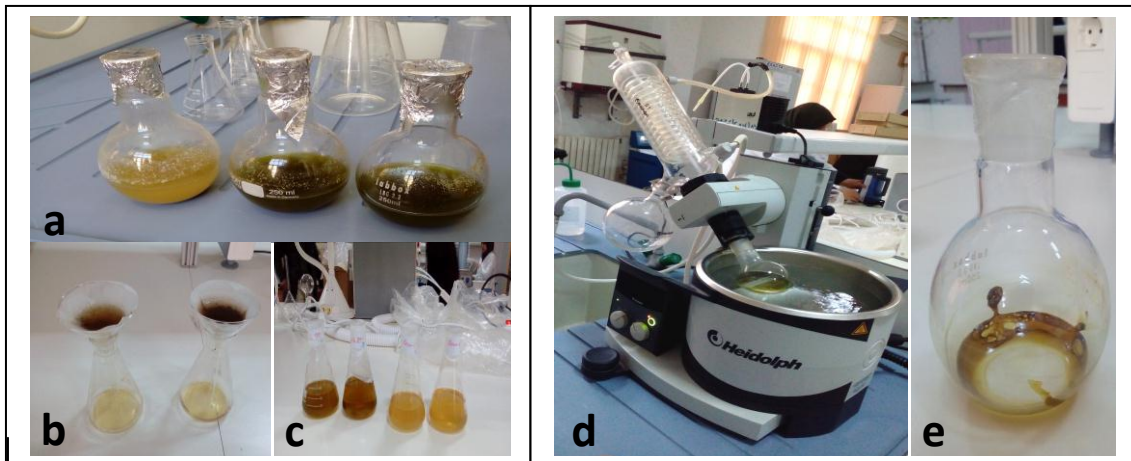


Figure 13. Décantation, filtration et récupération de filtrat et évaporation du l'extrait dans un évaporateur rotatif

a : l'extrait avant filtration, **b:** filtration, **c:** filtra,
d : évaporation d'extrait. **e :** résidus sec d'extrait

I.2.2. Calcul des rendements

Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir d'une matière végétale, il est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche.

$$R (\%) = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

- ✚ **P1 :** masse du ballon après évaporation
- ✚ **P2 :** masse du ballon avant évaporation
- ✚ **P3 :** masse de la matière végétale de départ

I.2.3. Préparation des extraits fractionnés par l'acétate d'éthyle et le n-butanol

Après préparation de l'extrait eau-méthanol, la concentration de cette extrait récupérée est utilisée pour une extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle et le n-butanol par le protocole de (Bekkara et al., 1998) (Figure).

I.2.4. Analyse chromatographie (CCM)

Pour la séparation des extraits bruts des parties des deux plantes étudiée, une chromatographie sur couche mince à été réalisée dans le système solvant BAW (Butanol/acide acétique/eau) ayant comme adsorbant le polyamide la révélation a été faite dans l'UV 254 à 366 nm.

La séparation des différents constituants d'un extrait selon leur migration dans la phase mobile, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse (**Ferrari ,2002 ; Ekoumou ,2003**).

Le protocole de cette manipulation est le suivant :

- ✚ Introduire le système solvant choisi BAW (n-butanol/ acide acétique/eau) (40/10/50) dans la cuve à chromatographie.
 - ✚ Fermer la cuve (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant).
 - ✚ Tracer la ligne de dépôt à environ 1 cm du bord de la plaque.
 - ✚ A l'aide d'une micropipette, déposer environ 5µl de chaque échantillon, le diamètre de la tâche environ 2,5mm. Effectuer plusieurs dépôts au même point, en séchant rapidement après chaque dépôt.
 - ✚ Placer la plaque dans la cuve à chromatographie contenant le système solvant.
 - ✚ Recouvrir la cuve et suivre le développement du chromatogramme.
 - ✚ Arrêter la chromatographie, lorsque le front du solvant se trouve à environ de 1 cm de l'extrémité supérieur.
 - ✚ Sécher le chromatogramme à l'air libre.
- **Révélation et calcul du rapport frontal (Rf)**

Dans tous les cas, les positions des taches colorées doivent être notées en les cerclant juste à la fin de la chromatographie car certains produits disparaissent avec le temps. Enfin calculer le rapport frontal (Rf) pour chaque tache par la relation suivante :

$$Rf = \frac{\text{distance parcourue par le constituant}}{\text{distance parcourue par l'éluant}}$$

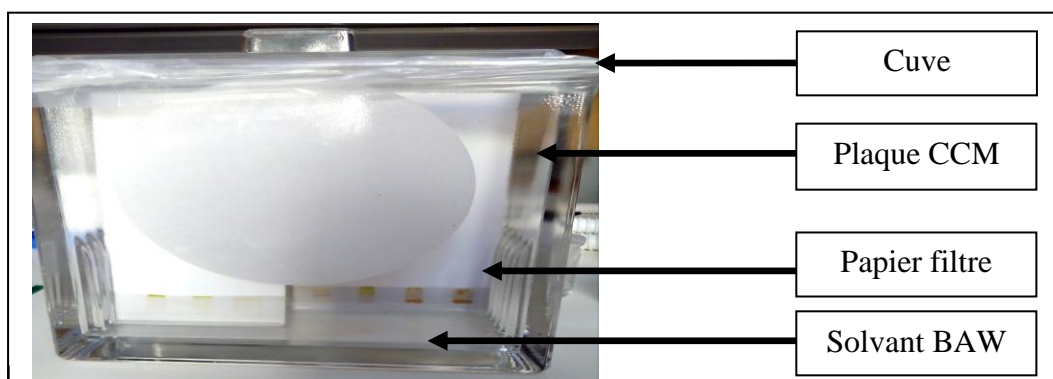
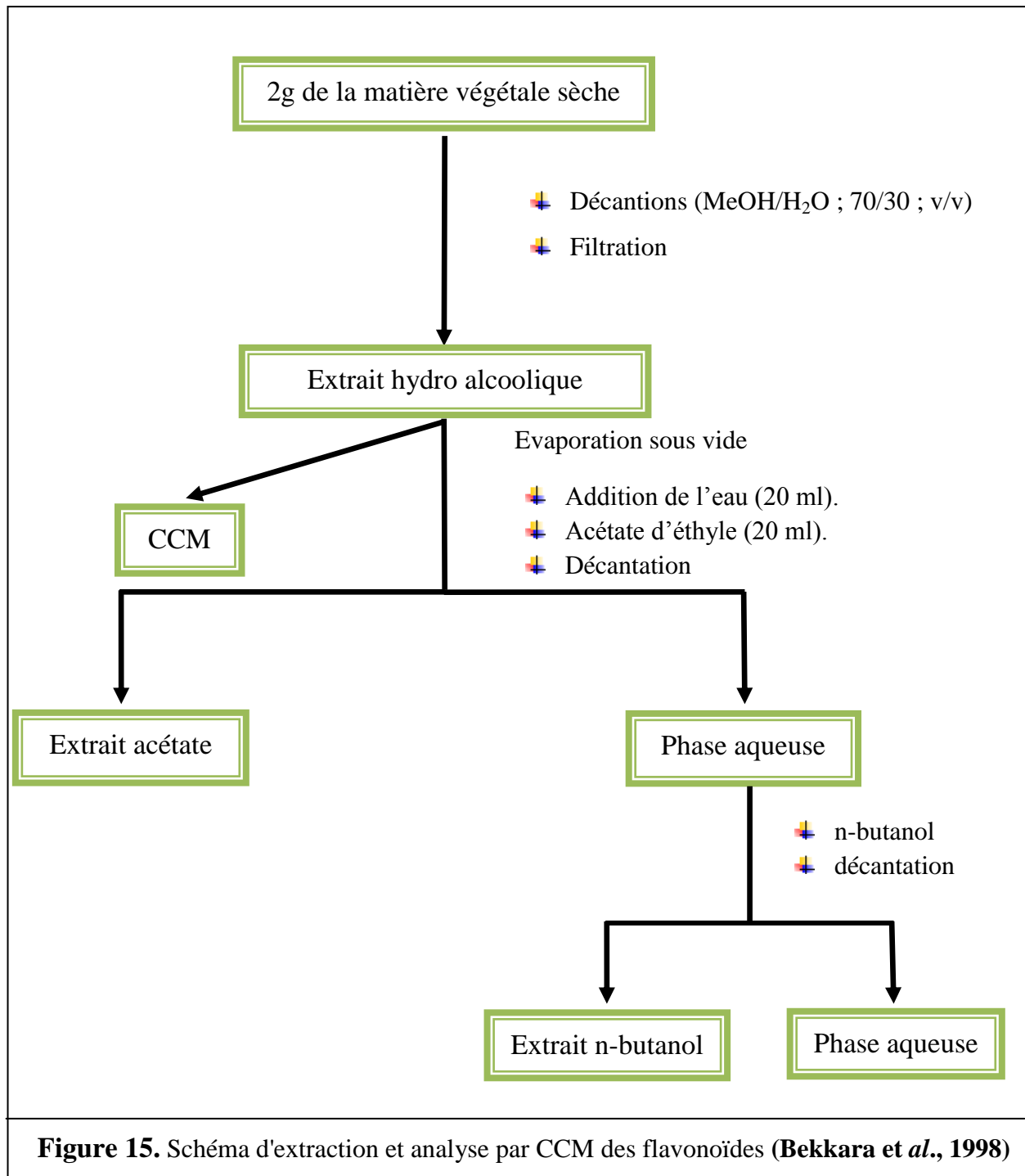


Figure 14. Photo de cuve de CCM



I.2.5. Analyse phytochimique

I.2.5.1. Dosage des phénols totaux

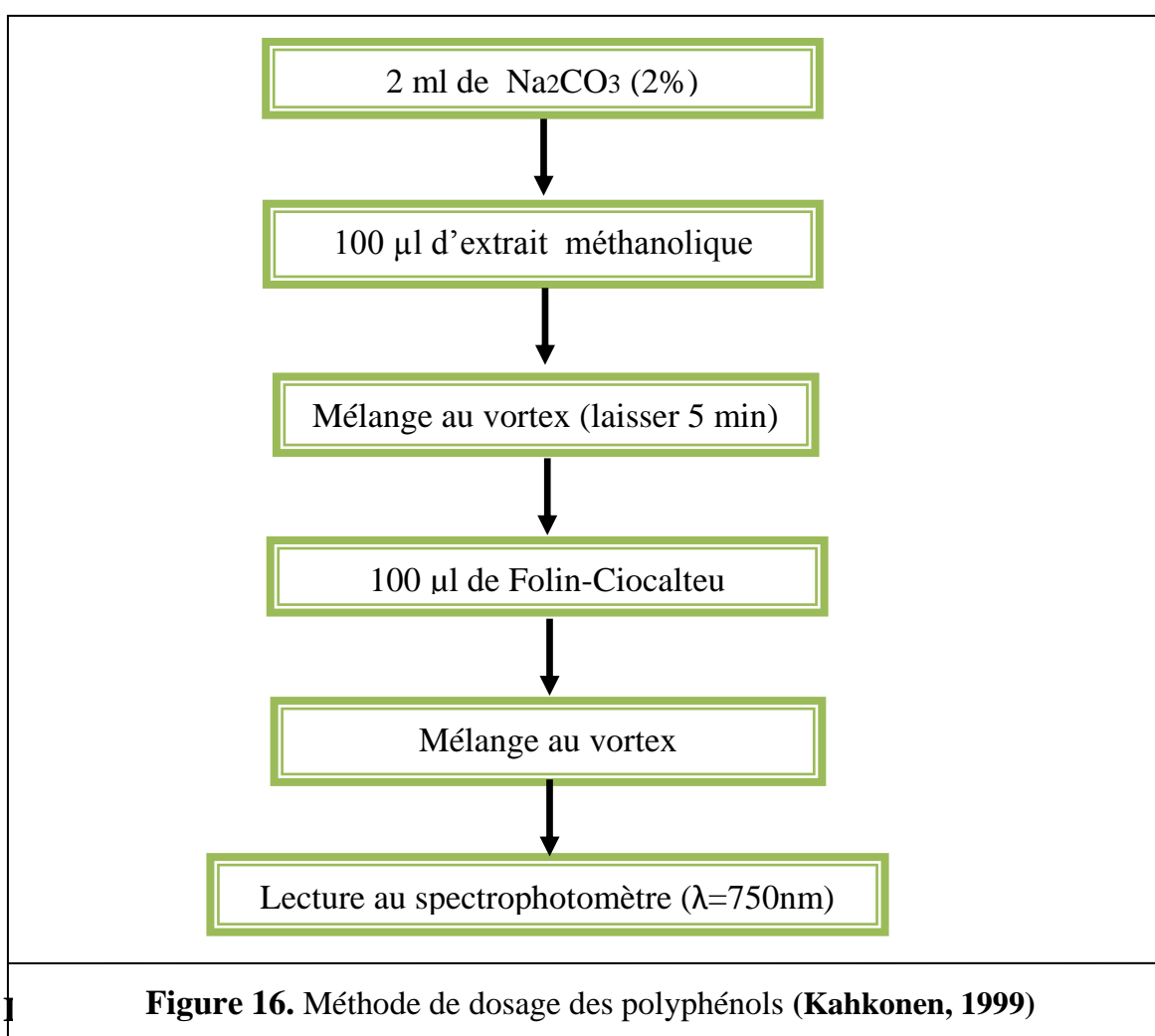
- **Principe**

L'analyse quantitative des polyphénols est réalisée par le dosage spectrophotométrie à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible selon la procédure du Folin-Ciocalteu (Kahkonen et al., 1999). La lecture de la densité optique à 750 nm permet de déterminer la concentration des polyphénols, en se référant à une courbe d'étalonnage dressée à partir d'une série de solution étalons de l'acide gallique ayant des différentes concentrations.

- **Mode opératoire**

Dans des tubes à essai, on mélange 2 ml de Na_2CO_3 (2%) et 100 μl d'extrait méthanolique, on agite puis on laisse 5 min, après on ajoute 100 μl de la solution de Folin-Ciocalteu. On agite au vortex et on laisse 30 min à l'obscurité. (Figure 19).

Le blanc est préparé en remplaçant la quantité de l'extrait méthanolique par l'eau, dans les mêmes conditions. Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à 750 nm.



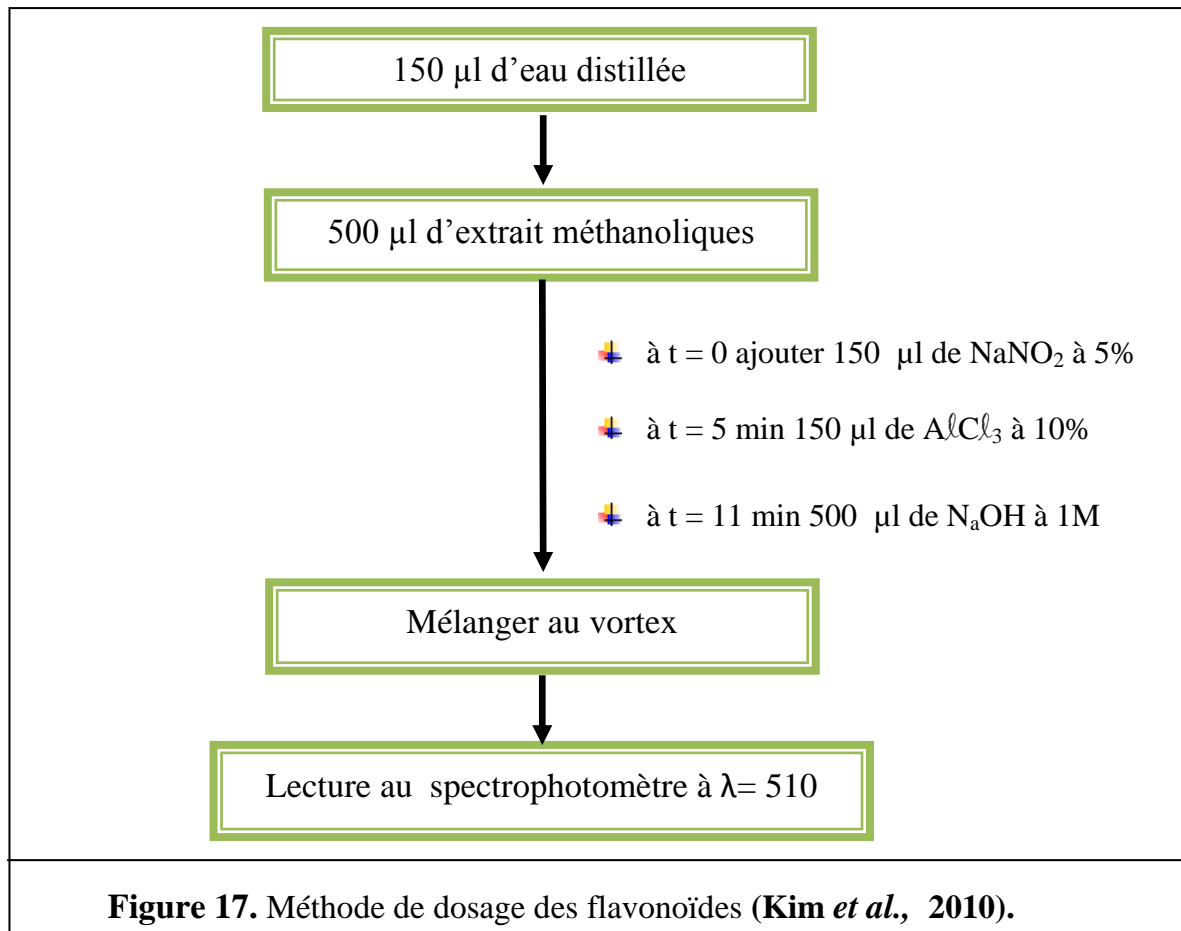
- **Principe**

L'analyse quantitative des flavonoïdes est réalisée par le dosage spectrophotométrique selon la méthode décrite par (Kim et al., 2010). La lecture de la densité optique 510 nm permet de déterminer la concentration des flavonoïdes, en se référant à une courbe d'étalonnage dressée à partir d'une série de solution étalons de catéchine ayant des différentes concentrations. (Figure 20)

- **Mode opératoire**

Dans des tubes à essai, on mélange 500 µl d'extrait méthanolique et 1500 µl d'eau distillée, puis on ajoute successivement les réactifs suivants:

- ✚ Au temps zéro, 150 µl de NaNO_2 à 5%.
- ✚ Après 5 minutes, 150 µl d' AlCl_3 à 10%.
- ✚ Après 11 minutes, 500 µl de NaOH 1M.
- ✚ Le blanc est préparé en remplaçant la quantité de l'extrait méthanolique par l'eau, dans les mêmes conditions. Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à 510 nm.



I.2.6. Tests d'évaluation de l'effet antimicrobien

I.2.6.1. Technique de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme)

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été déterminée par la technique de diffusion sur gélose (Mueller-Hinton). L'activité antibactérienne est évaluée par la mesure de la zone de clarification en millimètres tout autour des disques (NCCLS, 1993).

- **Mode opératoire**

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive pour les bactéries et la gélose Sabouraud pour les *C.albicans*. Après 18h d'incubation à (37°C pour les bactéries et 30°C pour les *C.albicans*), des suspensions microbiennes d'une densité optique de 0.5 McFarland, ce qui correspond à $1-2 \times 10^8$ UFC/ml pour les bactéries (D.O = 0.08 à 0.1 / $\lambda = 625$ nm) , $1-5 \times 10^6$ UFC/ml pour *C.albicans* (D.O = 0.12 à 0.15 / $\lambda = 530$ nm) (NCCLS, 2001).

Chaque microorganisme est préparé dans 5 ml d'eau physiologique stérile.

Un ensemencement par des suspensions préalablement préparées est effectué par la méthode d'écouvillonnage à la surface de boîtes de pétri dans lesquelles ont été coulées 5mm d'épaisseur de la gélose Mueller Hinton.

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode de (Kavbouche et al., 2005). Des puits d'environ 6 mm de diamètre ont été effectués dans la gélose Mueller Hinton. Chaque puits d'une boîte a reçu 50 μ l de chaque extrait aux concentrations de 20 et 30 mg/ml. Des boîtes de Pétri ont été incubées à (37°C pour les bactéries et 30°C pour les *C.albicans*) pendant 24 heures, les zones d'inhibition autour du point d'application des puits sont mesurées en millimètres après 24h d'incubation. L'extrait est remplacé par le DMSO comme un témoin négatif.

L'activité de fractions étudiées de *Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis* a été évaluée par la présence ou l'absence d'inhibition de la croissance microbienne. La présence de l'activité antimicrobienne est traduite par l'apparition des zones claires autour des puits remplis des extraits de la plante. Le diamètre d'halos varient en fonction de la souche testée, la nature et la dose de la substance active présente dans les extraits (Orhan et al., 2012).

Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité : $D < 8$ mm : bactérie non sensible ; $9 < D < 14$ mm : bactérie sensible ; $15 < D < 19$ mm : bactérie très sensible et $D > 20$ mm : bactérie extrêmement sensible (Bouharb et al., 2014).

I.2.6.2. L'activité antifongique

La technique utilisée est la technique de diffusion en milieu gélosé (**Wang et al., 2005**). On ajoute dans 20 ml du milieu PDA différentes quantités d'extraits bruts. La quantité ajoutée est 100 µl dans les deux concentrations 20mg/ml et 30mg/ml.

Ce mélange est coulé dans des boîtes de pétri. Après séchage à la température ambiante, on inocule au centre de ces boîtes des disques de mycélium de chaque moisissure de 6 mm de diamètre coupés d'une culture de 5 à 7 jours. Nous incubons ces boîtes à 25° C ± 2° C. Après incubation, la mesure des diamètres des zones de croissances de l'hyphe par rapport au contrôle se traduit par l'application de la formule de (**Wang et al., 2005**).

$$I\% = [(D_t - D_e)/D_t] \times 100$$

- ✚ I : pourcentage d'inhibition du mycélium.
- ✚ D_t : diamètre de la colonie mycélienne témoin (non traité par des extraits), en centimètre.
- ✚ D_e : diamètre de la colonie mycélienne (traité par des extraits), en centimètre.

I.2.7. L'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes de détermination de l'activité antioxydante. La complexité chimique des extraits, souvent un mélange de dizaines de composés de groupes fonctionnels différents, de polarité et de comportement chimique, pourrait conduire à des résultats dispersés, en fonction du test utilisé. Dans cette étude, on a utilisé une méthode de piégeage des radicaux DPPH•.

I.2.7.1. Estimation du pouvoir antiradicalaire par la méthode au DPPH

Le pouvoir antiradicalaire est évalué selon la méthode décrite par (**Dong-Sun lee et al., 2001**)

- **Principe**

La méthode DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est une méthode simple, rapide et facile à mettre en œuvre. Elle est utilisée par (**Dong-Sun lee et al., 2001**).

Les composés antioxydants présents dans les extraits de nos espèces végétales peuvent réduire le radical libre (DPPH•) selon la réaction suivante:



La réduction du DPPH• s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution de DPPH•, mesurable à $\lambda = 515 \text{ nm}$.

- **Mode opératoire**

La solution de DPPH• à 0,0025 g /mL est préparée à l'avance (au moins 2 heures) car la solubilisation est difficile, et elle ne se conserve pas plus de 48h à l'obscurité. On prend 50 μL de l'échantillon à différentes concentrations, sont ajoutés à 1.95 ml d'une solution méthanolique de DPPH•, pour chaque concentration un blanc est préparé.

Un contrôle négatif est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 μL du méthanol avec 1.95 ml d'une solution méthanolique de DPPH• à la même concentration utilisée.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min, la lecture des absorbances est effectuée à $\lambda = 515 \text{ nm}$ à l'aide d'un spectrophotomètre.

Afin de comparer les extraits entre eux un indice est calculé: **IC₅₀** quantité en (g) de composés phénoliques nécessaire pour obtenir 50% d'inhibition (**Mansouri et al., 2005**). Les résultats de l'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\mathbf{I \%} = [(A_t - A_e)/A_t] \times 100 \text{ (Wang et al., 2002)}$$

✚ **A_t** : La densité optique de DPPH sans extrait

✚ **A_e** : La densité optique de DPPH avec extrait

✚ **I%** : pourcentage d'inhibition.

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit deux paramètres :

- ✓ Le calcul de **IC₅₀** : il définit la concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% du DPPH• en solution.

Les valeurs de **IC₅₀** des deux espèces étudiées *Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis* pour les différents extraits méthanolique, acétatique et butanolique ont été estimées en utilisant la courbe de régression linéaire : **y = ax + b**

Où **y** : 50% (pourcentage de réduction de DPPH•)

x : **IC₅₀** (la concentration en extrait et de l'acide ascorbique)

- ✓ Le calcul du pouvoir antiradicalaire : (**APR**) qui est inversement proportionnel à l'**IC₅₀**

$$(\mathbf{APR} = 1/\mathbf{IC}_{50})$$

I.2.8. Etude statistique

Le logiciel utilisé pour ajuster les données de piégeage du radical DPPH•, la détermination des polyphénols totaux, des flavonoides, et l'activité antioxydante des extraits est le logiciel (**Origin 8**). Il est évalué par le calcul du X^2 (Khi carré) et le coefficient de corrélation R^2

Les modèles choisis sont :

- $Y = A + B X$ fonction linéaire où : **A** et **B** sont des constantes.

Ce modèle est utilisé pour la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, la courbe d'étalonnage de la catéchine, et la courbe du pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique.

- $Y = Y_0 + A_1 \exp(-x/t_1)$ fonction exponentiel ou **Y₀**, **A₁**, et **t₁** sont des constantes

Ce modèle est utilisé dans les courbes du pouvoir antioxydant des extraits.

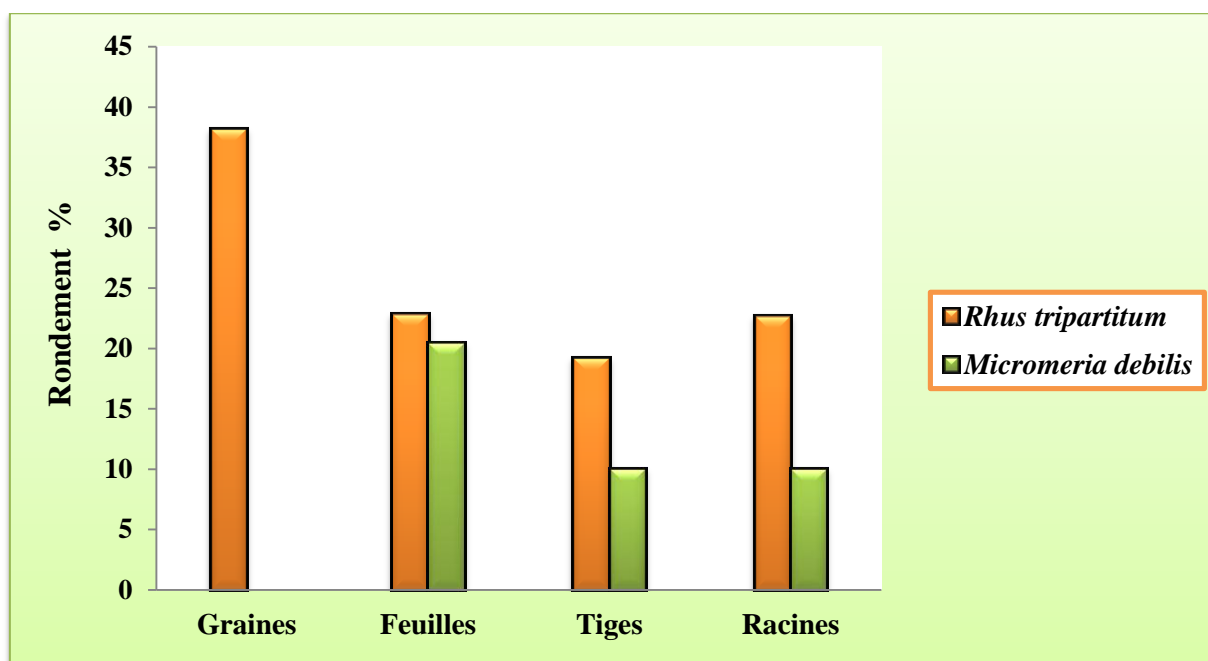
Chapitre II :

Résultats et discussion

II.1. Rendement des extraits secs des deux espèces *Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis*

Dans cette étude, le rendement a été déterminé par rapport à 2 g de matériel végétal sec.

Les résultats sont exprimés en pourcentage. (Figure 21), (Annexe I.1).



&

Figure 18. Rendement des extraits secs des deux espèces *Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis*

Nos résultats indiquent que le rendement des extraits de la matière sèche de *Rhus tripartitum* est 38.22% pour les gaines et pour les autres parties sont similaire ; les feuilles 22.86%, les racines 22.71% et pour les tiges 19.21%.

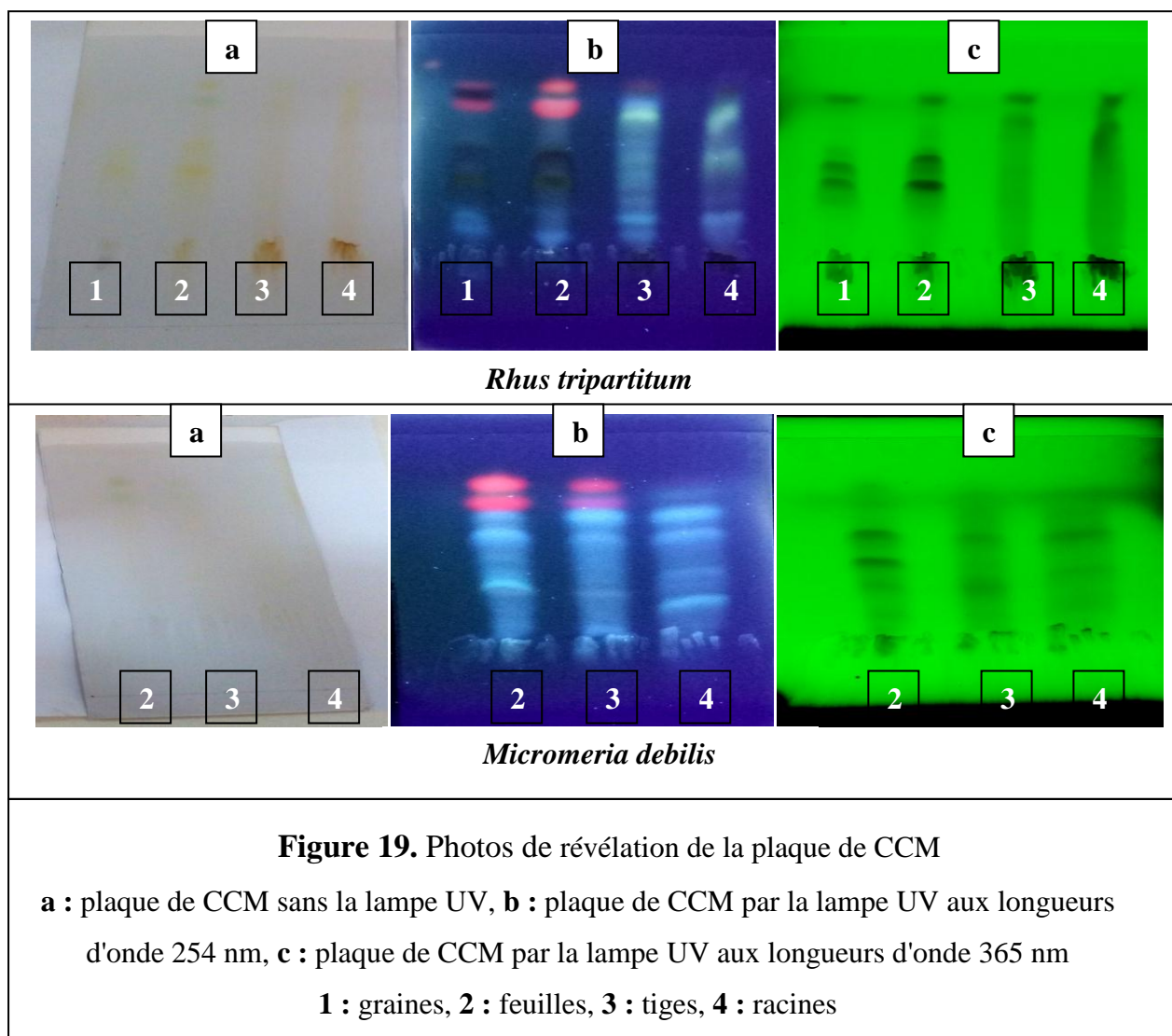
Pour la deuxième plante *Micromeria debilis*, on a trouvé que le grand pourcentage dans les feuilles de valeur 20.45%, et des faibles pourcentages dans les tiges (10.05%) et les racines (10.04%).

II.2. Analyse chromatographie (CCM)

Les résultats de la séparation des composés phénoliques par CCM des extraits de *Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis* sont résumés dans (Tableau 4), (Figure 22).

Tableau 4. La séparation des composés phénoliques par CCM de *Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis* (Système solvant BAW. support : gel de Polyamide).

Extrait méthanolique de <i>Rhus tripartitum</i>				Extrait méthanolique de <i>Micromeria debilis</i>			
	Couleur (365nm)	Rf			Couleur (365nm)	Rf	
Graines	Jaune	0.82	Flavonol	Feuilles	Jaune	0.85	Flavonol
	Violet	0.77	Flavone		Rose	0.81	composés phénoliques
	Marron	0.56	Phénol		Bleu clair	0.79	Acide phénol
	Vert jaunâtre	0.49	Flavonol		Rouge	0.77	composés phénoliques
					Bleu clair	0.65	Acide phénol
			Vert jaunâtre		0.55	Flavonol	
Feuilles	Rose	0.80	composés phénoliques		Tiges	Bleu clair	0.83
	Violet	0.77	Flavone	Rouge		0.80	composés phénoliques
	Rouge	0.76	composés phénoliques	Bleu		0.77	Acide phénol
	Marron	0.60	Phénol	Rouge		0.75	composés phénoliques
	Marron	0.58	Phénol	Bleu		0.70	Acide phénol
	Marron	0.51	Phénol	Bleu		0.63	Acide phénol
	Vert jaunâtre	0.49	Flavonol				
	Vert jaunâtre	0.47	Flavonol				
Tiges	Jaune	0.80	Flavonol	Racines	Bleu	0.77	Acide phénol
	Bleu clair	0.76	Acide phénol		Bleu clair	0.71	Acide phénol
	Jaune	0.73	Flavonol		Bleu	0.63	Acide phénol
	Jaune	0.70	Flavonol				
Racines	Vert jaunâtre	0.77	Flavonol				
	Jaune	0.73	Flavonol				



II.2.1. Mise en évidence des différents composés des extraits de *Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis*

Dans le système solvant BAW (Butanol/acide acétique/eau) ayant comme adsorbant le polyamide, nous avons identifié dans la plante de *Rhus tripartitum* : quatre bandes de couleur pour la partie graines, cinq pour la partie feuilles et pour les parties tiges et racines. La majorité de ces composés sont les flavones, flavonols et des composés phénoliques.

Micromeria debilis : cinq bandes de couleur identifiées pour la partie feuilles, trois pour la partie tiges et deux pour la partie racine. La majorité de ces composés sont les flavonols et les composés phénoliques particulièrement l'acide-phénol dans les racines.

Les échantillons analysés semblent contenir des triterpènes (coloration violet, rose et orange par révélation à la vanilline sulfurique) (Govindachari et al., 1972) et des stérols (coloration bleu) , a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) colorées

surtout en bleu, jaune et orange. Ces trois colorations confirment la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes (Dohou *et al.*, 2003; Mamyrbekova-Bekro *et al.*, 2012).

En application de toutes ces données bibliographiques à l'ensemble des résultats que nous avons obtenus, nous déduisons que tous les spots révélés correspondent à des composés phénoliques et des flavonoïdes. Ce qui confirme la richesse des extraits de deux plantes de métabolites secondaires.

L'extrait brut de la plante *Rhus tripartitum* a une constitution flavonique homogène et des composés phénoliques (presque la majorité des spots sont violets, jaune et marron) et la plante *Micromeria debilis* qui contient plus de composés phénoliques que de flavonoïdes (la majorité des spots sont bleus).

II.3. Dosages de polyphénols et des flavonoïdes

Les composés phénoliques constituent une classe principale des antioxydants présents dans les plantes et il sont généralement quantifiés par une méthode colorimétrique de Folin- Ciocalteu (Kanatt *et al.*, 2007).

La teneur en phénols totaux estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu pour chaque extrait a été rapportée en mg équivalent d'acide gallique/g du matériel végétal sec (mg GAE/g) (Annexe II.3).

La teneur en flavonoïdes est déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium pour chaque extrait et elle a été rapportée en mg équivalent de catéchine/g du matériel végétal sec (mg CEQ/g) (Annexe II.4).

II.3.1. Les résultats de teneur en phénols totaux et flavonoïdes

Les résultats des extraits de *Rhus tripartitum* sont illustrés dans (Figure 23) et (Annexe II.1).

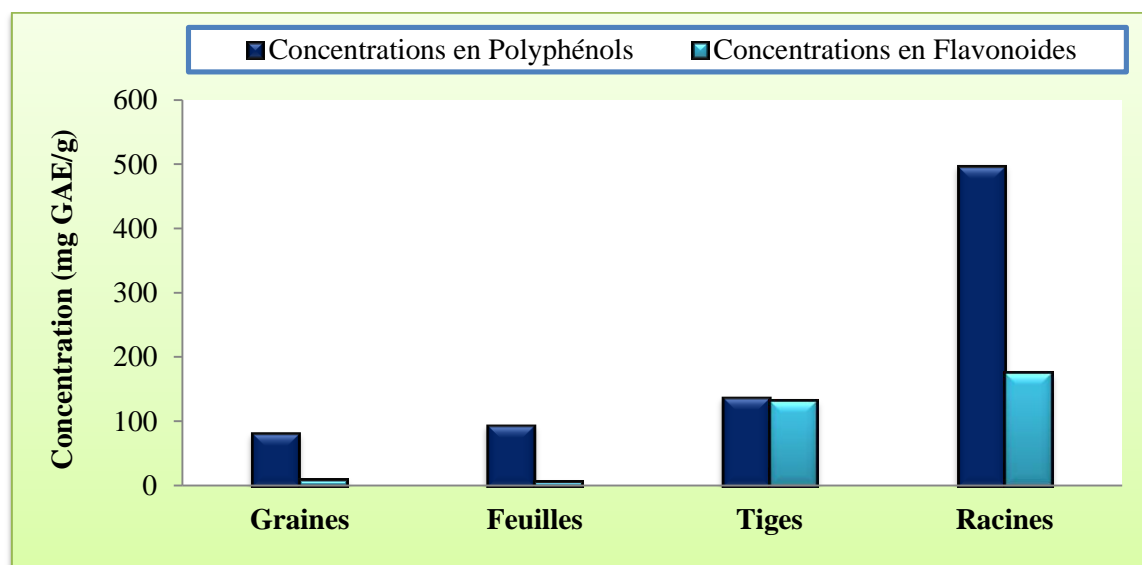


Figure 20. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits méthanoliques de plante *Rhus tripartitum*

Les résultats obtenus à partir des courbes d'étalonnages montrent que l'extrait méthanolique des racines de *Rhus tripartitum* contient une teneur plus élevée en polyphénols avec une valeur de 497.15 mg GAE /g d'extrait suivit par les extraits de tiges d'une valeur 138.214 mg GAE/g. Par contre les graines sont la plus faible de valeur 82.366 mg GAE/g.

Quant aux teneurs en flavonoïdes, nous avons remarqué une forte teneur pour les extraits des racines et des tiges avec des valeurs de l'ordre de 174.938 mg CEQ/g et 132.069 mg CEQ /g, respectivement. Mais les graines et les feuilles ont présenté des teneurs faibles en flavonoïdes.

De nombreux travaux antérieurs rapportent la variabilité existant dans le contenu en composés phénoliques entre les espèces végétales et au sein de la même espèce.

En ce qui concerne les polyphénols, les parties aériennes (feuilles, tiges et fruits) ont été étudiées par (Mahjoub et al., 2010) et (Hadjadj, 2016). La quantité de polyphénols trouvée pour cette équipe (372.3 mg GAE/g) et (402.11 mg GAE/g) respectivement pour la plante *Rhus tripartitum* est légèrement plus proche à nos résultats. Pour les racines, une étude tunisienne montre la présence de 789.88 mg GAE/g d'extrait de polyphénols (Ben barka et al., 2016), ce résultat est supérieure à nos résultats.

En comparant les autres espèces du genre, la quantité de polyphénols de *Rhus verniciflya* (597 mg GAE/g) (Kim et al., 2010), est supérieure à nos résultats.

Les flavonoïdes pour les parties aériennes (fruits, feuilles) ont été étudiés par (Chetoui et al., 2013) avec un taux en flavonoïdes de l'ordre 9.79, 11.93 mg CEQ /g, ces résultats étaient supérieures à nos résultats, et pour les racines 174.938 mg CEQ /g sont inférieure à celle de l'étude de (Ben barka et al., 2016) qui ont obtenus la valeur de 538.34 mg CEQ /g.

II.3.2. Les résultats de teneur en phénols totaux et flavonoïdes

Les résultats des extraits de *Micromeria debilis* sont illustrés dans (Figure 24), (Annexe II.2).

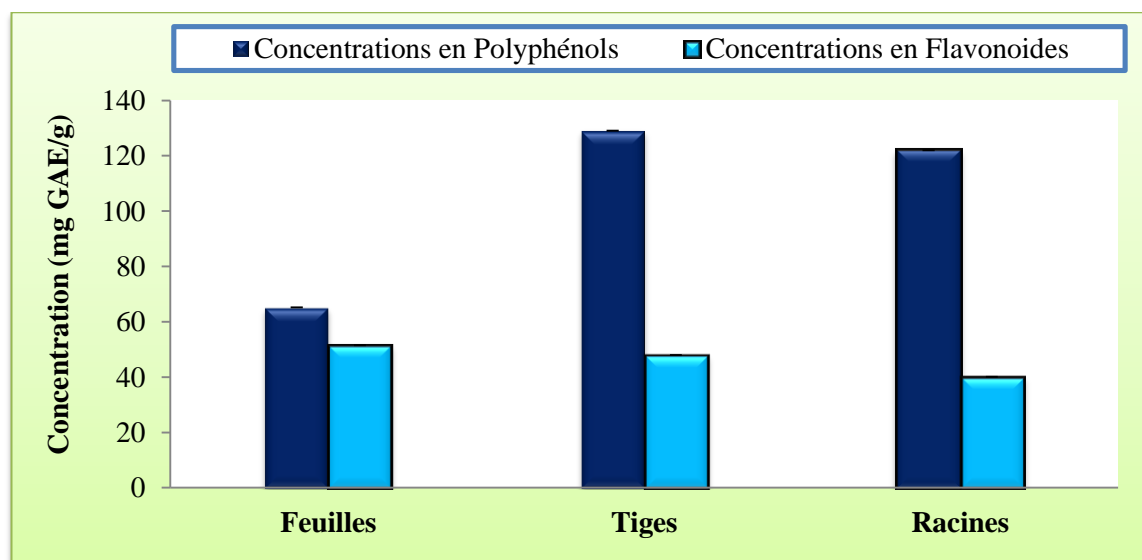


Figure 21. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits méthanoliques de Plante *Micromeria debilis*

Les extraits de notre plante sont riches en polyphénols, dans les tiges et les racines avec des valeurs de l'ordre de 129.107 mg GAE/g et 122.026 mg GAE/g, respectivement, et pour les teneurs de flavonoïdes, dans les feuilles (51.572 mg CEQ /g), les tiges (47.976 mg CEQ /g) et les racines (40.12 mg CEQ /g).

Il n'existe pas des travaux sur les composés phénoliques de *Micromeria debilis*. Nous avons estimé de comparer nos résultats à certaines plantes du même genre *Satureja* (*Micromeria*). Nous citons comme exemple, les composés phénoliques totaux dans les parties aériennes de *Satureja cuneifolia* de Türk (Damien et al., 2004).

Ces auteurs montrent que le taux en phénols totaux de ces plantes est 151 mg GAE /g. Cette quantité est semblable à nos résultats.

La quantité de flavonoïdes de *Satureja cuneifolia* (Damien et al., 2004) dans les parties aériennes est 3.03 mg CEQ /g . Nous remarquons que nos résultats sont plus supérieurs à celles de ces études.

Cette différence résulte vraisemblablement du fait que les composés phénoliques d'une plante dépendent d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques tels que les facteurs climatiques, la maturité, les pratiques culturales et les conditions de stockage après la récolte (Bourgou et al., 2008).

II.4. Activité antimicrobienne

Nous avons étudié le pouvoir antimicrobien des extraits isolés de la plante *Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis* par la méthode des puits sur un milieu gélosé.

L'activité antimicrobienne de nos extraits est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant les produits à tester vis-à-vis des germes pathogènes.

II.4.1. Sensibilité aux antibiotiques et aux antifongiques

Trois antibiotiques et un antifongique standard ont été testés pour leurs effets sur les microorganismes sélectionnés pour cette étude. Leurs effets étaient hétérogènes et le diamètre de la zone d'inhibition des cultures microbiennes est exprimé en mm. Les mesures de celles-ci sont présentées dans les figures suivantes (Figure 27), (Annexe III.1).

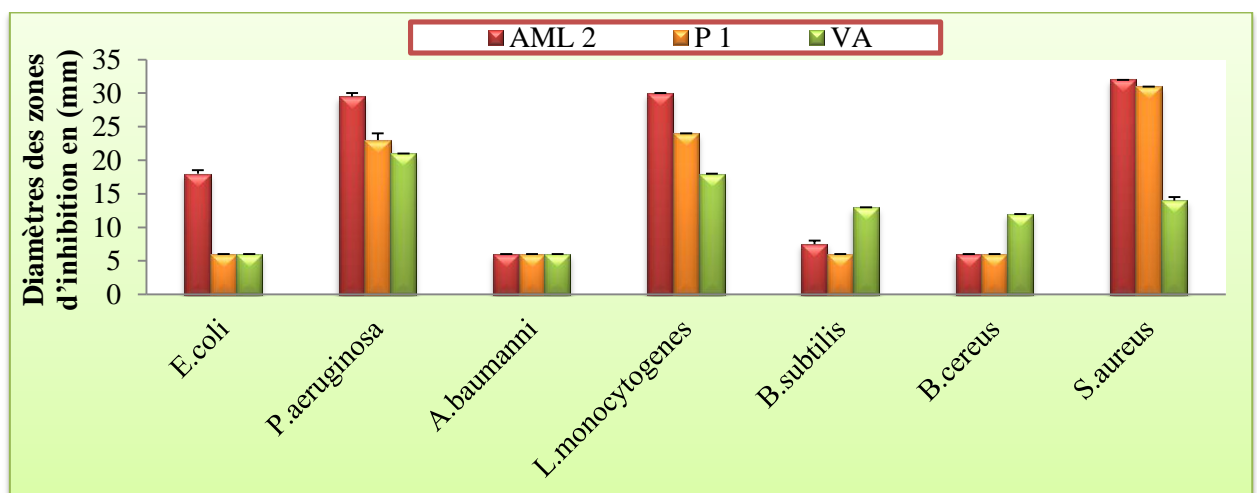


Figure 22. Activité des antibiotiques contre les bactéries
AML 2 : Amoxicilline, **P1 :** Pénicilline, **VA :** Vancomycine.

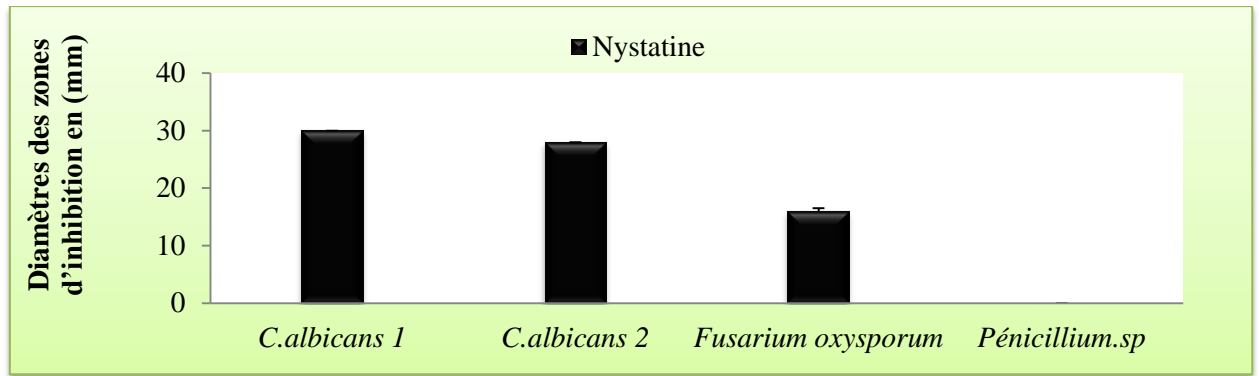


Figure 23. Activité des antibiotiques contre les champignons
NY : Nystatine

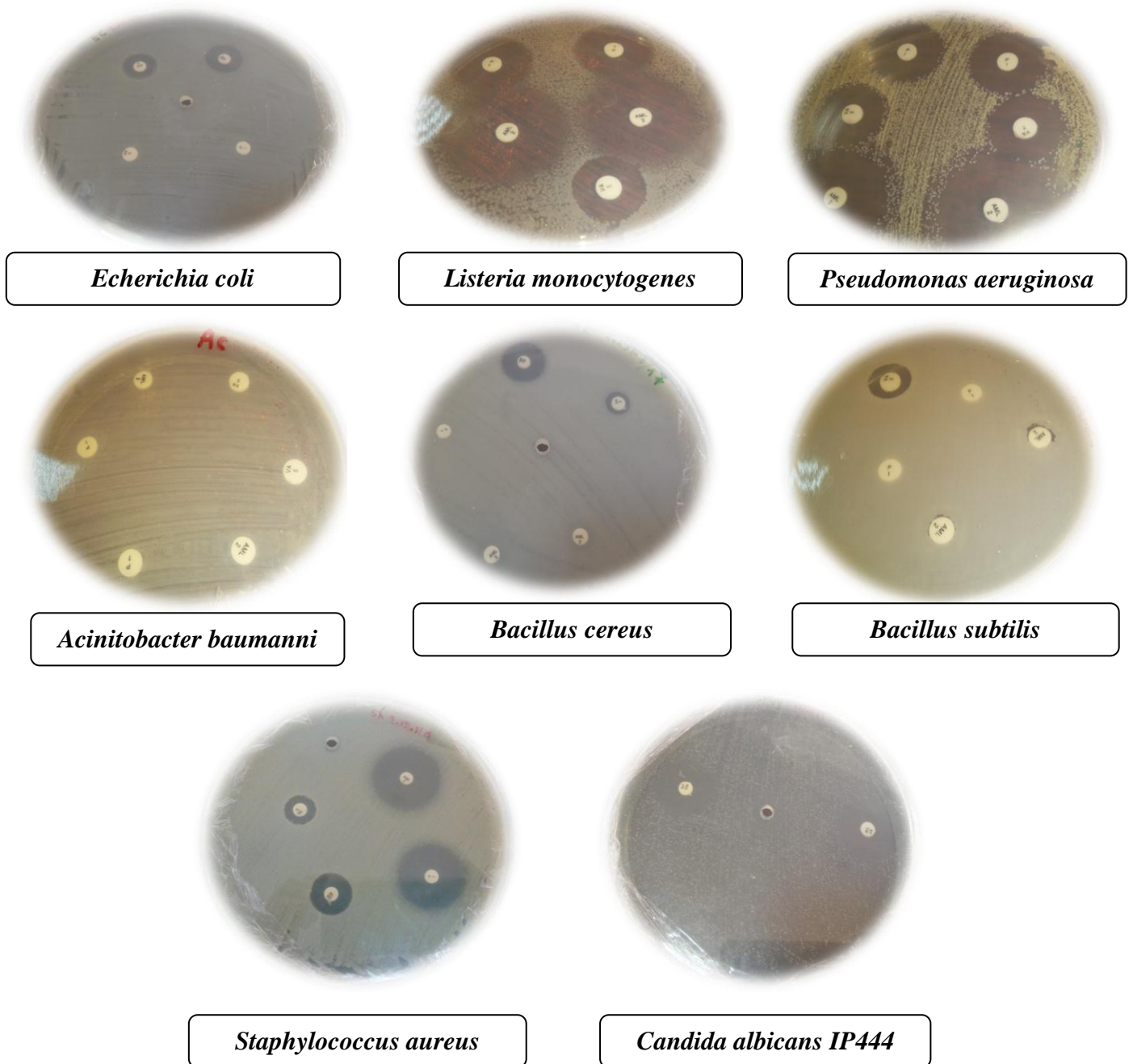


Figure 24. Activité des antibiotiques sur les microorganismes testés

II.4.2. Pouvoir antimicrobien des extraits de la plante *Rhus tripartitum*

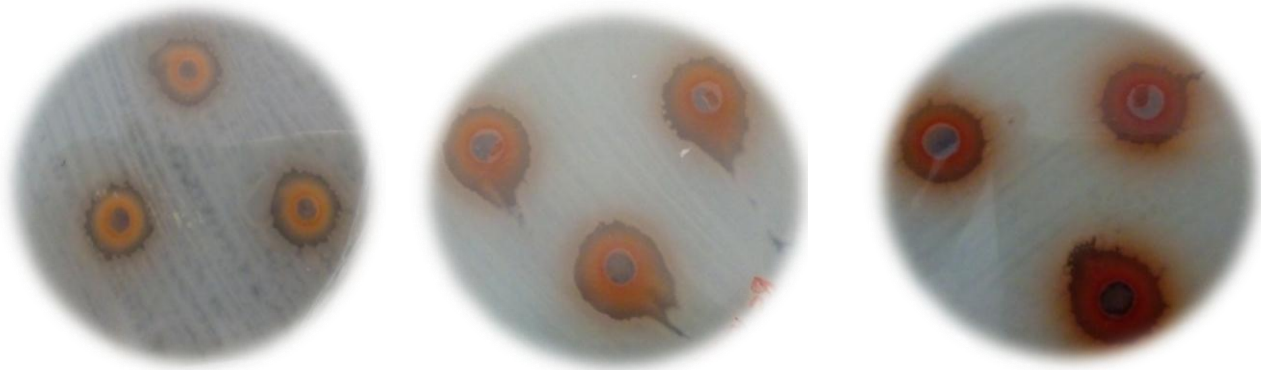
Les résultats obtenus dans (Tableaux 5, 6), (Annexes III.3, III.4.1, III.4.2)

Tableau 5. Diamètres des zones d'inhibition en (mm) d'un extrait méthanolique des parties de *Rhus tripartitum* vis-à-vis des souches bactériennes

Concentration (µg/µl)	Extraits de <i>Rhus tripartitum</i>	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)							DMSO
		Bactéries Gram (-)			Bactéries Gram (+)				
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	
20	Feuilles	06 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	7.66 ± 0.33	9 ± 0.57	9.33 ± 0.66	06
	Tiges	06 ± 0.00	14 ± 0.00	06 ± 0.00	6.66 ± 0.33	11.33 ± 0.33	12.66 ± 0.33	14.66 ± 0.33	06
	Racines	06 ± 0.00	15.66 ± 0.33	06 ± 0.00	8.66 ± 0.33	12.66 ± 0.33	14.33 ± 0.33	14 ± 0.00	06
30	Feuilles	06 ± 0.00	10.33 ± 0.33	06 ± 0.00	06 ± 0.00	9.33 ± 0.33	11.66 ± 0.33	12 ± 0.57	06
	Tiges	11.66 ± 0.33	16.33 ± 0.33	06 ± 0.00	9.66 ± 0.33	12.33 ± 0.33	14.33 ± 0.33	15.66 ± 0.33	06
	Racines	06 ± 0.00	16.66 ± 0.33	9.33 ± 0.33	15.66 ± 0.33	13 ± 0.00	14.66 ± 0.33	16.66 ± 0.33	06

Tableau 6. Diamètres des zones d'inhibition en (mm) d'un extrait méthanolique des parties de *Rhus tripartitum* vis-à-vis des souches fongiques

Concentration (mg/ml)	Extraits de <i>Rhus tripartitum</i>	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)						DMSO
		<i>C. albicans</i> IP444	<i>C. albicans</i> 26790	<i>F.oxysporum</i>		<i>Penicillium. sp</i>		
				Diamètre en mm	% d'inhibition	Diamètre en mm	% d'inhibition	
20	Feuilles	6.33 ± 0.33	10.66 ± 0.33	7.5 ± 0.5	12.5	24 ± 1	30	06
	Tiges	14.66 ± 0.33	15 ± 0.00	8.5 ± 0.5	14.16	25.5 ± 1.5	35	06
	Racines	14.66 ± 0.66	14.33 ± 0.33	5 ± 5	8.33	0	0	06
30	Feuilles	13.66 ± 0.33	14 ± 0.57	11.5 ± 0.5	19.16	39 ± 0.00	48.75	06
	Tiges	15.66 ± 0.33	15.33 ± 0.33	9.5 ± 2.5	15.83	28 ± 0.00	61.68	06
	Racines	17.33 ± 0.33	16.66 ± 0.33	8.5 ± 1.5	14.16	2.5 ± 2.5	3.12	06

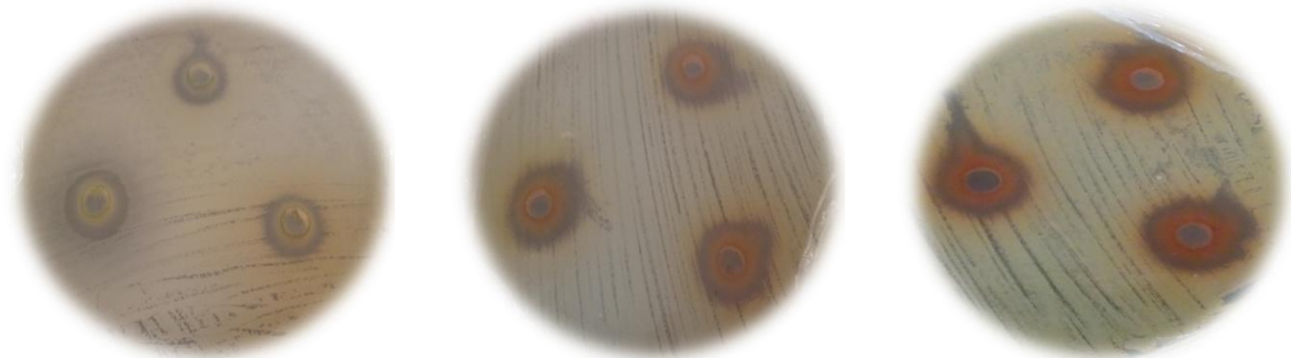


Extrait des tiges (30 µg/µl)

Extrait des racines (20 µg/µl)

Extrait des racines (30µg/µl)

Figure 25. Effet des extraits (tiges et racines) de *Rhus tripartitum* sur la souche *Bacillus cereus*

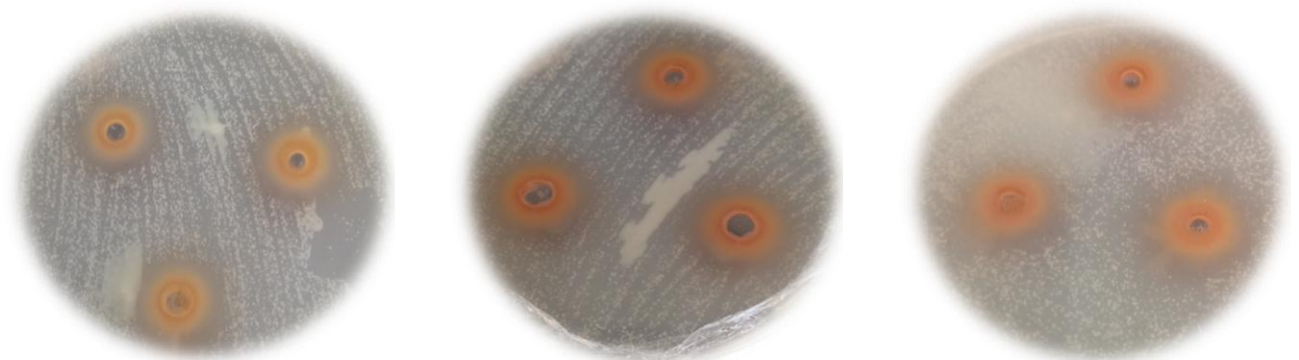


Extrait des feuilles (30 µg/µl)

Extrait des tiges (30 µg/µl)

Extrait des racines (20 µg/µl)

Figure 26. Effet des extraits (feuilles, tiges et racines) de *Rhus tripartitum* sur la souche *Staphylococcus aureus*



Extrait des tiges (30 µg/µl)
Candida albicans 26790

Extrait des racines (30 µg/µl)
Candida albicans 26790

Extrait des racines (30 µg/µl)
sur *Candida albicans* IP444

Figure 27. Effet des extraits (feuilles, tiges et racines) de *Rhus tripartitum* sur la souche *Candida albicans*

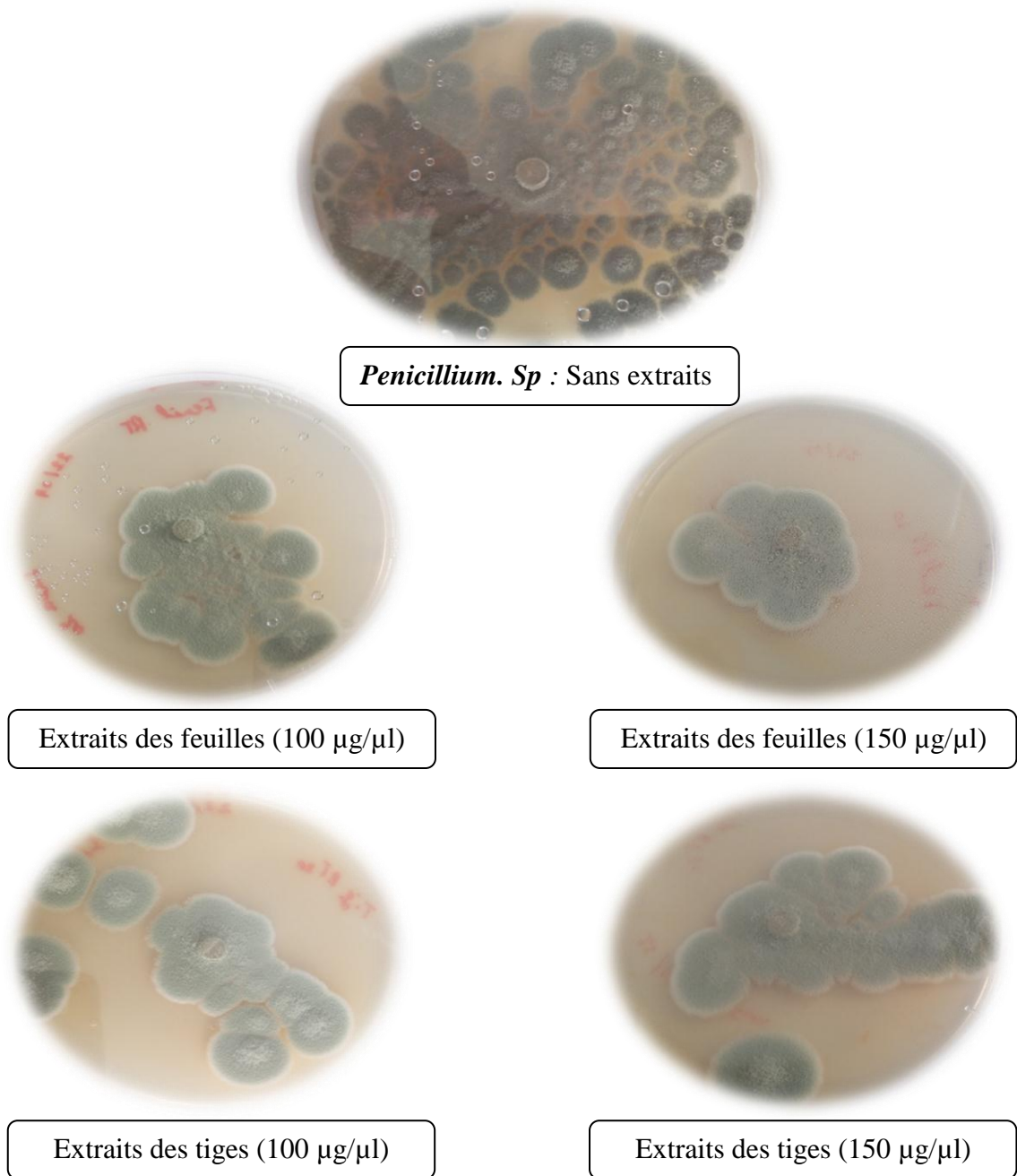


Figure 28. Effet de l'extraits (feuilles, tiges) de *Rhus tripartitum* sur la souche *Penicillium. Sp*

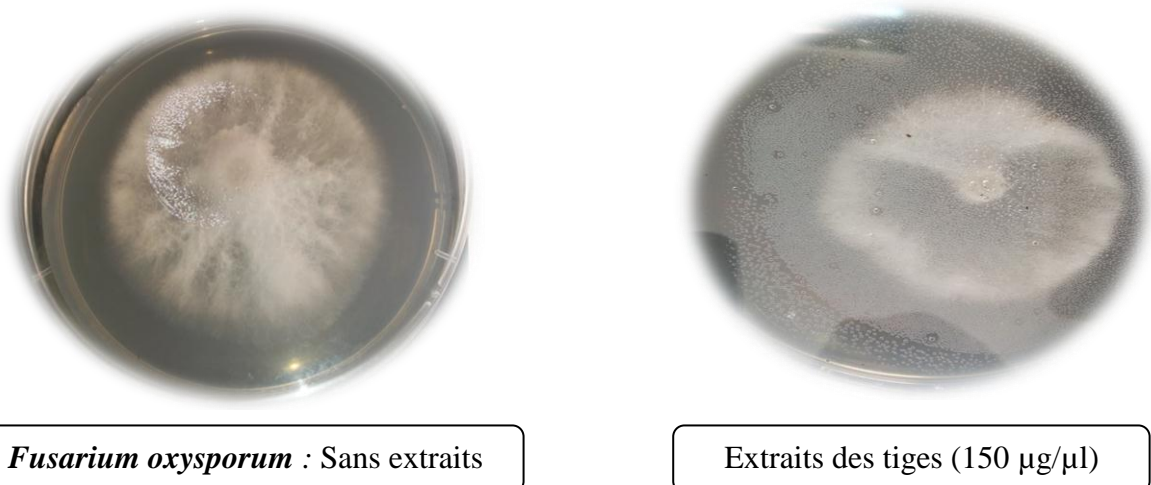


Figure 29. Effet de l'extrait (tiges) de *Rhus tripartitum* sur la souche *Fusarium oxysporum*

Le résultat de ce test révèle que les bactéries Gram positif (*S.aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis*) apparaissent les plus sensibles aux extraits des tiges et des racines avec des zones d'inhibitions variant entre (11.33 à 14.66 mm) de la concentration 20 µg/µl et des zones d'inhibitions variées entre (12.33 à 16.66 mm) de la concentration 30 µg/µl. Contrairement la bactérie (*L.monocytogenes*) on a remarqué une sensibilité uniquement contre les racines avec une zone d'inhibition 15.66 mm d'une concentration 30 µg/µl.

Mais pour les bactéries Gram négatif (*P.aeruginosa*) on a remarqué qu'il y a une sensibilité aux extraits des tiges et des racines dans les deux concentrations avec des zones d'inhibitions varie entre (14 à 16.66 mm).

En ce qui concerne l'activité antifongique des extraits contre les levures, nous avons remarqué que les extraits ont une activité vis-à-vis des deux souches de *C. albicans* avec des diamètres de 13.66 à 17.33 de la concentration 30 µg/µl, et contre les champignons filamenteux, il ya une activité signifiante de feuilles et tiges d'un pourcentage d'inhibition 48.75 et 61.68 % contre (*Penicillium.sp*) à la concentration 150 µg/µl.

Les résultats des études de (Hadjadj, 2016) rapporte que les extraits méthanoliques des parties aériennes de *Rhus tripartitum* ont une activité antibactérienne vis-à-vis les bactéries Gram négatif *E.coli* , *P.aeruginosa* et Gram positif *S.aureus*, semblablent à nos résultats

Pour l'activité antibactérienne des racines nous avons comparé avec l'étude de (Ben barka et al., 2016), elles montrent que la bactérie *E.coli est* sensible avec une zone d'inhibition 14.33 contrairement à notre résultat selon lequel il n'y avait pas de sensibilité à cette bactérie, et pour l'activité de *S.aureus* est sensible avec une zone d'inhibition 21.67 mm. Ces résultats sont légèrement similaires au notre étude.

II.4.3. Pouvoir antimicrobien des extraits de la plante *Micromeria debilis*

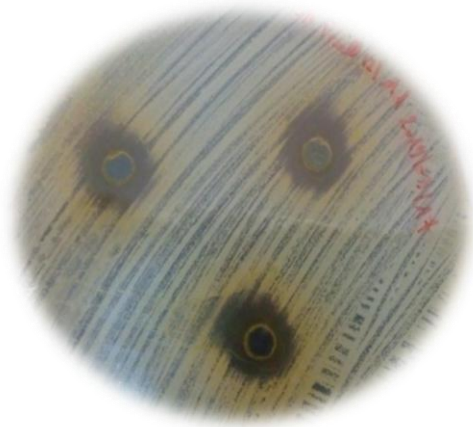
Les résultats obtenus dans (Tableaux 7, 8), (Annexes III.5, III.6.1, III.6.2)

Tableau 7. Diamètres des zones d'inhibition en (mm) d'un extrait méthanolique des parties de *Micromeria debilis* vis-à-vis des souches bactériennes

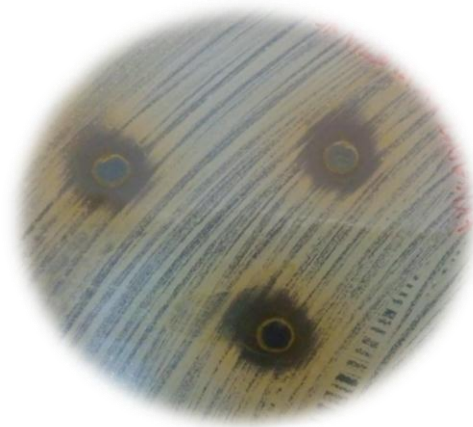
Concentration (µg/µl)	Extraits de <i>Micromeria debilis</i>	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)							DMSO
		Bactéries Gram (-)			Bactéries Gram (+)				
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>L. Monocytogenes</i>	<i>B. Subtilis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	
20	Feuilles	7.66 ± 0.33	06 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	11.33 ± 0.33	06
	Tiges	7 ± 0.57	06 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	8.33 ± 0.33	17.66 ± 0.33	16.33 ± 0.66	06
	Racines	8 ± 0.57	06 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	06
30	Feuilles	8.33 ± 0.33	06 ± 0.00	11 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	8 ± 0.57	12 ± 0.00	06
	Tiges	9 ± 0.57	06 ± 0.00	13.66 ± 0.33	06 ± 0.00	8.66 ± 0.33	20.66 ± 0.33	23.33 ± 0.66	06
	Racines	11 ± 0.00	06 ± 0.00	11.33 ± 0.33	06 ± 0.00	06 ± 0.00	10.66 ± 1.20	7.33 ± 0.33	06

Tableau 8. Diamètres des zones d'inhibition en (mm) d'un extrait méthanolique des parties de *Micromeria debilis* vis-à-vis des souches fongiques

Concentration (mg/ml)	Extraits de <i>Micromeria debilis</i>	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)						DMSO
		<i>C. albicans</i> IP444	<i>C. albicans</i> 26790	<i>F.oxysporum</i>		<i>Penicillium. Sp</i>		
				Diamètre en mm	% d'inhibition	Diamètre en mm	% d'inhibition	
20	Feuilles	6 ± 0.00	6 ± 0.00	6.5 ± 0.5	10.83	0	0	06
	Tiges	6 ± 0.00	6 ± 0.00	4 ± 0.00	6.66	0	0	06
	Racines	6 ± 0.00	12.33 ± 0.33	4 ± 0.00	6.66	22 ± 2	27.5	06
30	Feuilles	6 ± 0.00	9.33 ± 0.66	25.5 ± 9.5	42.5	17 ± 0.00	21.25	06
	Tiges	9 ± 1.15	6 ± 0.00	9 ± 5	15	0	0	06
	Racines	6 ± 0.00	12.66 ± 0.33	6.5 ± 2.5	10.83	30 ± 3	37.5	06



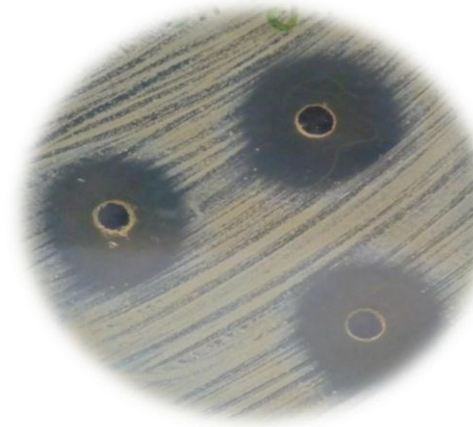
Extrait des feuilles (20 µg/µl)



Extrait des feuilles (30 µg/µl)

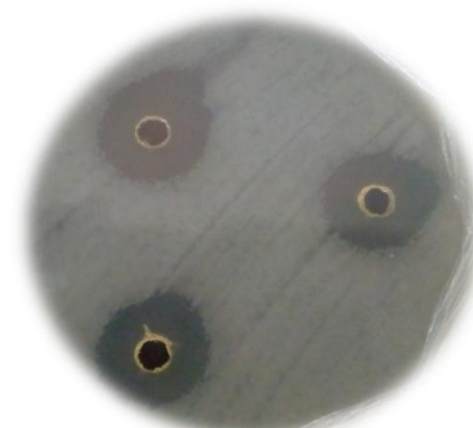


Extrait des tiges (20 µg/µl)



Extrait des tiges (30 µg/µl)

Figure 30. Effet des extraits (feuilles, tiges e) de *Micromeria debilis* sur la souche *Staphylococcus aureus*



Extrait des tiges (20 µg/µl)



Extrait des tiges (30 µg/µl)

Figure 31. Effet des extraits (tiges) de *Micromeria debilis* sur la souche *Bacillus cereus*

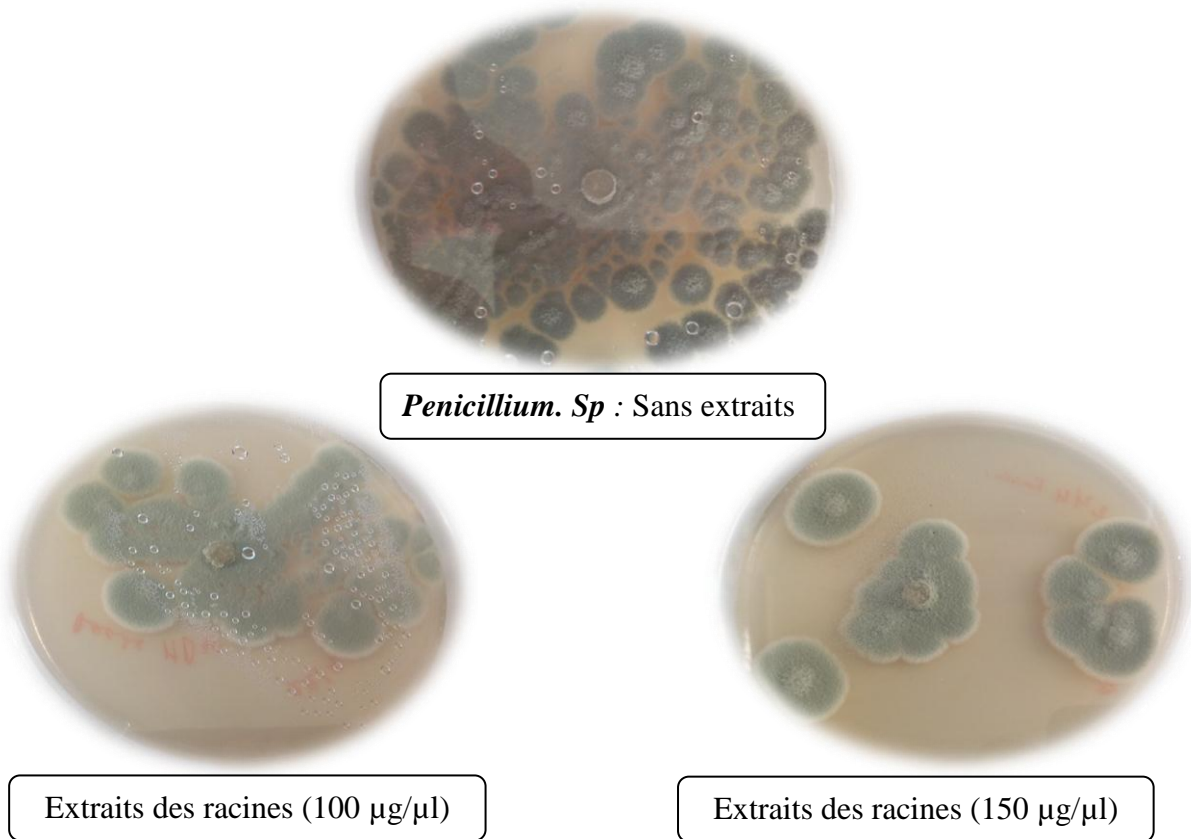


Figure 32. Effet des extraits (racines) de *Micromeria debilis* sur la souche *Penicillium. Sp*

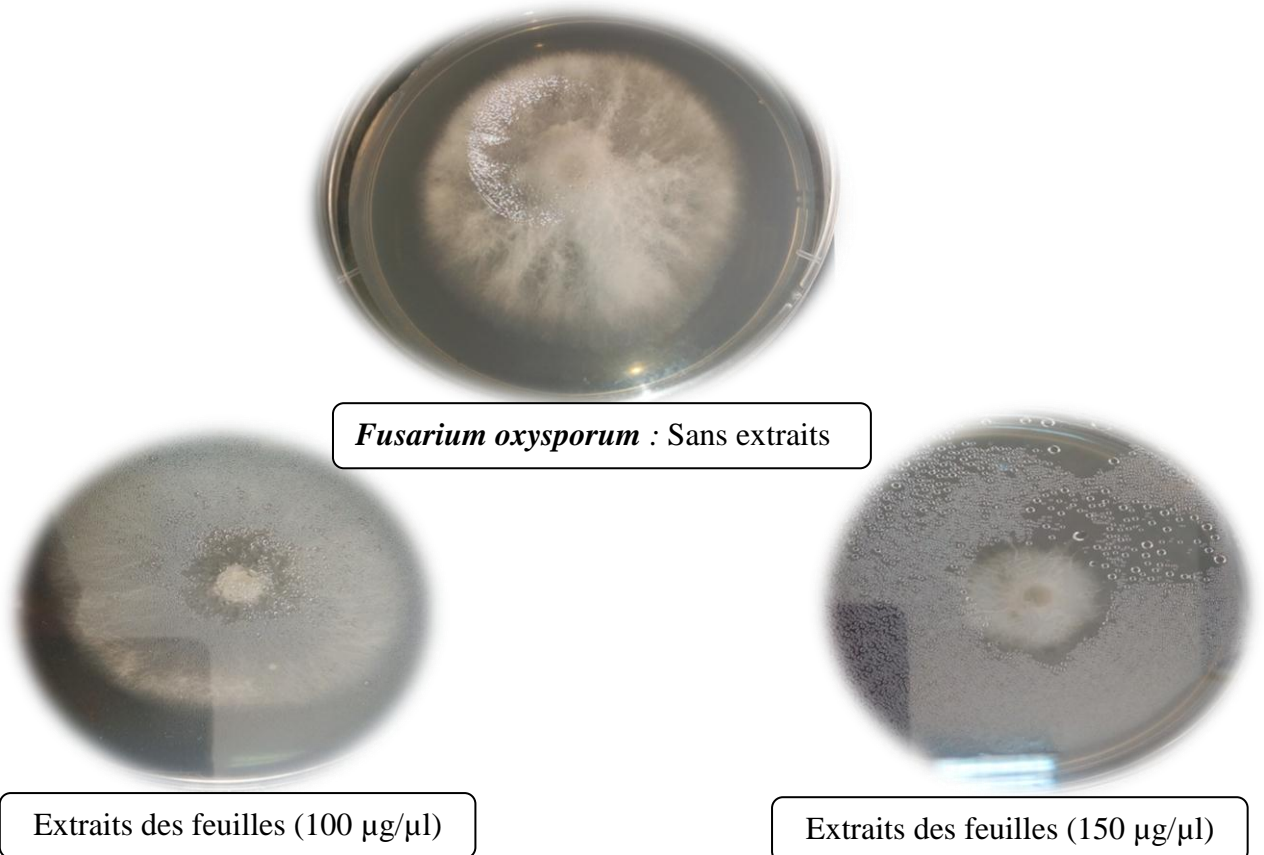


Figure 33. Effet des extraits (feuilles) de *Micromeria debilis* sur la souche *Fusarium oxysporum*

Les résultats montrent que l'activité d'extraits des parties étudiées contre les bactéries Gram positif (*S. aureus*, *B. cereus*), ont un effet très sensible vis-à-vis les tiges avec des zones d'inhibitions entre (16.33 et 17.66mm) de la concentration 20 µg/µl et > 20 à la concentration 30 µg/µl. Contrairement, il ya une faible sensibilité de ces bactéries aux extraits des feuilles et des racines dans les concentrations de 20 et 30 µg/µl avec des zones d'inhibitions entre (7.33 à 12mm).

L'activité antifongique des extraits ont exercé un effet faible vis-à-vis les deux souches de *C. albicans* avec des diamètres des zones d'inhibition allant de (9 à 12.66 mm) et on a vu un effet de l'extrait des feuilles 42.5% et des racines 37.5% contre *F.oxysporum* dans la concentration 150 µg/µl, et il ya un effet très faible contre les moisissures (*F.oxysporum*, *Penicillium.sp*) avec des pourcentages d'inhibition entre (0 à 27.5 %) dans la concentration 100 µg/µl.

A notre connaissance et selon la bibliographie disponible, il n'existe pas de travaux antérieurs sur l'activité anti-bactérienne des extraits méthanoliques de *Micromeria debilis*, pour cela, les résultats de cette étude ont été comparés à ceux obtenus dans les plantes de genre *saturija* (*Micromeria*).

Résultat de l'activité antibactérienne des parties aériennes de *Satureja calamintha* (Bougandoura, 2011) sur *E. coli* est faible. Par contre sur les bactéries *S. aureus* et *B. cereus* l'activité inhibitrice est forte.

En ce qui concerne le champignon filamenteux *F.oxysporum*, nous avons enregistré la valeur d'inhibition la plus élevée de 42 % dans l'extrait des feuilles, ce qui était légèrement inférieure à la valeur 65 % dans cette étude.

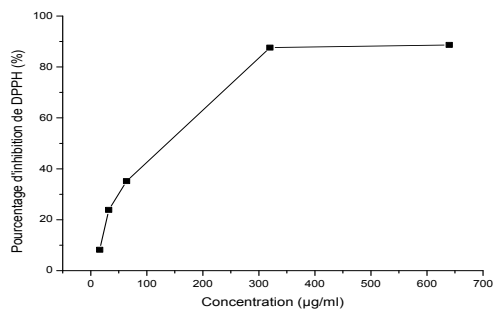
II.5. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl)

La méthode de piégeage de radical des DPPH est basée sur la réduction de la solution alcoolique de DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène en raison de la formation du DPPH-H non radicalaire (Cavar et al., 2009).

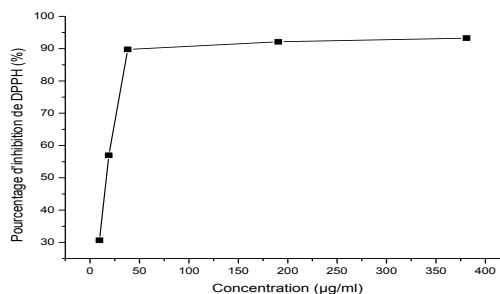
Les résultats de test antioxydant de deux plantes *Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis* sont donnés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH•.

• *Rhus tripartitum*

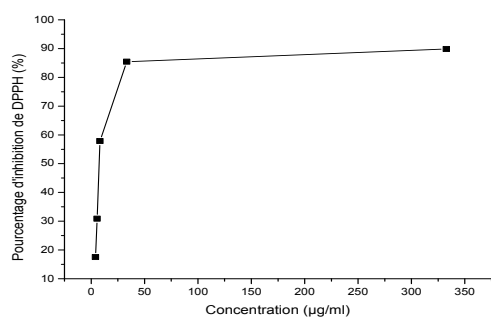
Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH dans (Figure 40), (Annexe IV.1).



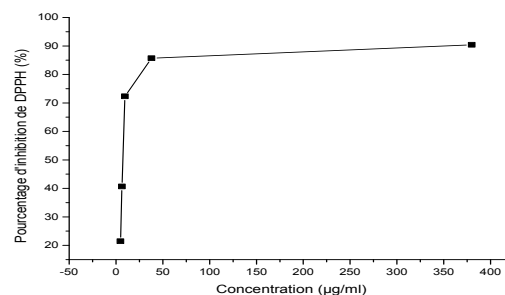
Graine RT (extrait brut)



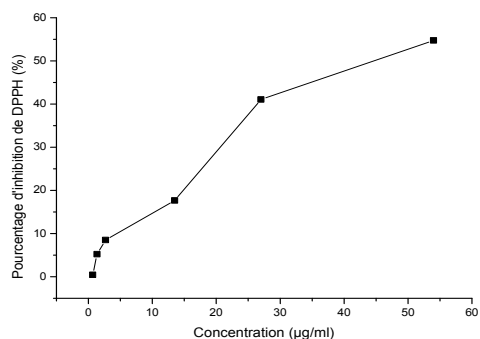
Feuille RT (extrait brut)



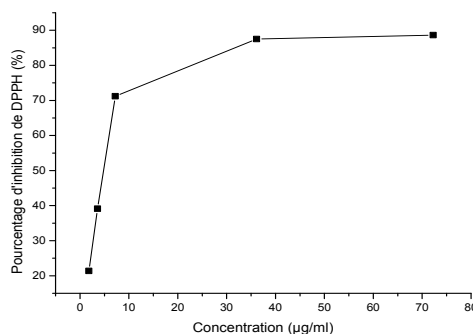
Tige RT (extrait brut)



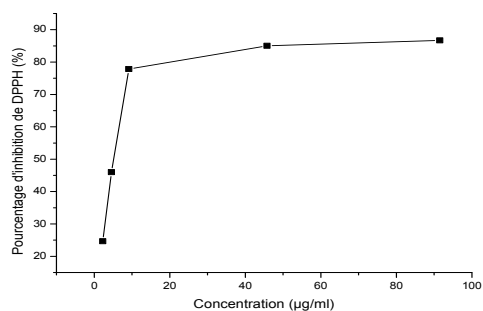
Racine RT (extrait brut)



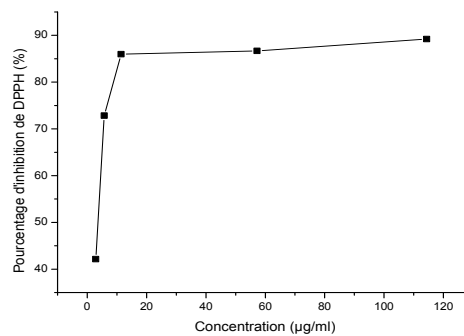
Graine RT (extrait acétate)



Feuille RT (extrait acétate)



Tige RT (extrait acétate)



Racine RT (extrait acétate)

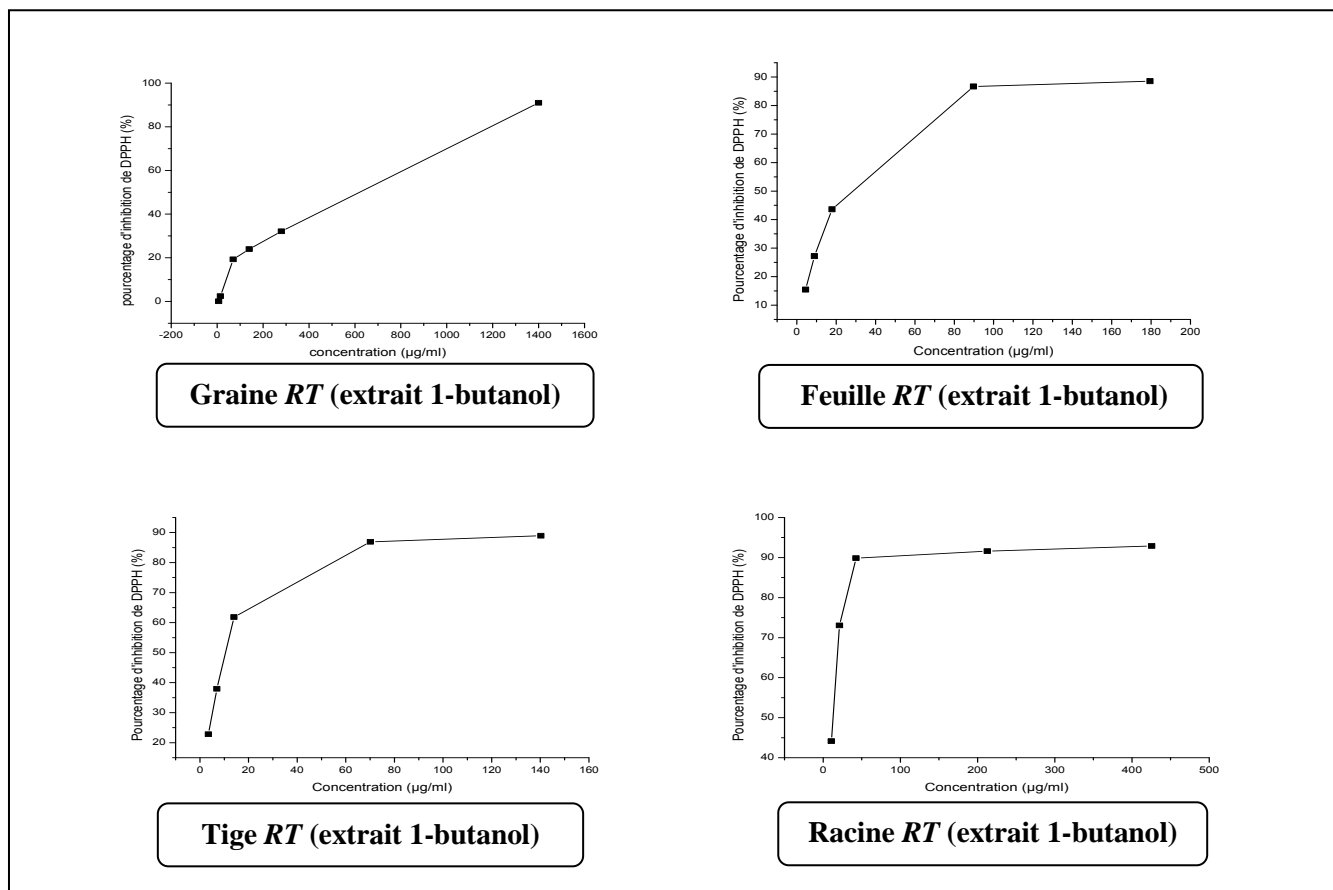


Figure 34. Pouvoir antioxydant des extraits falvonoïques de *Rhus tripartitum*.

Tableau 9. Puissance anti radicalaire des extraits méthanoliques de *Rhus tripartitum* et de l'acide ascorbique

	Extrait naturel	IC50 (µg/ml)	ARP	
<i>Rhus tripartitum</i>	Graines	Extrait brut	89.04	0.01
		Extrait acétate	38.62	0.02
		Extrait n-butanol	435.12	0.00
	Feuilles	Extrait brut	17.27	0.05
		Extrait acétate	4.55	0.21
		Extrait n-butanol	20.92	0.04
	Tiges	Extrait brut	7.40	0.13
		Extrait acétate	4.92	0.20
		Extrait n-butanol	10.01	0.09
	Racines	Extrait brut	7.05	0.14
		Extrait acétate	3.47	0.28
		Extrait n-butanol	12.90	0.07
Acide ascorbique		3.53	0.28	

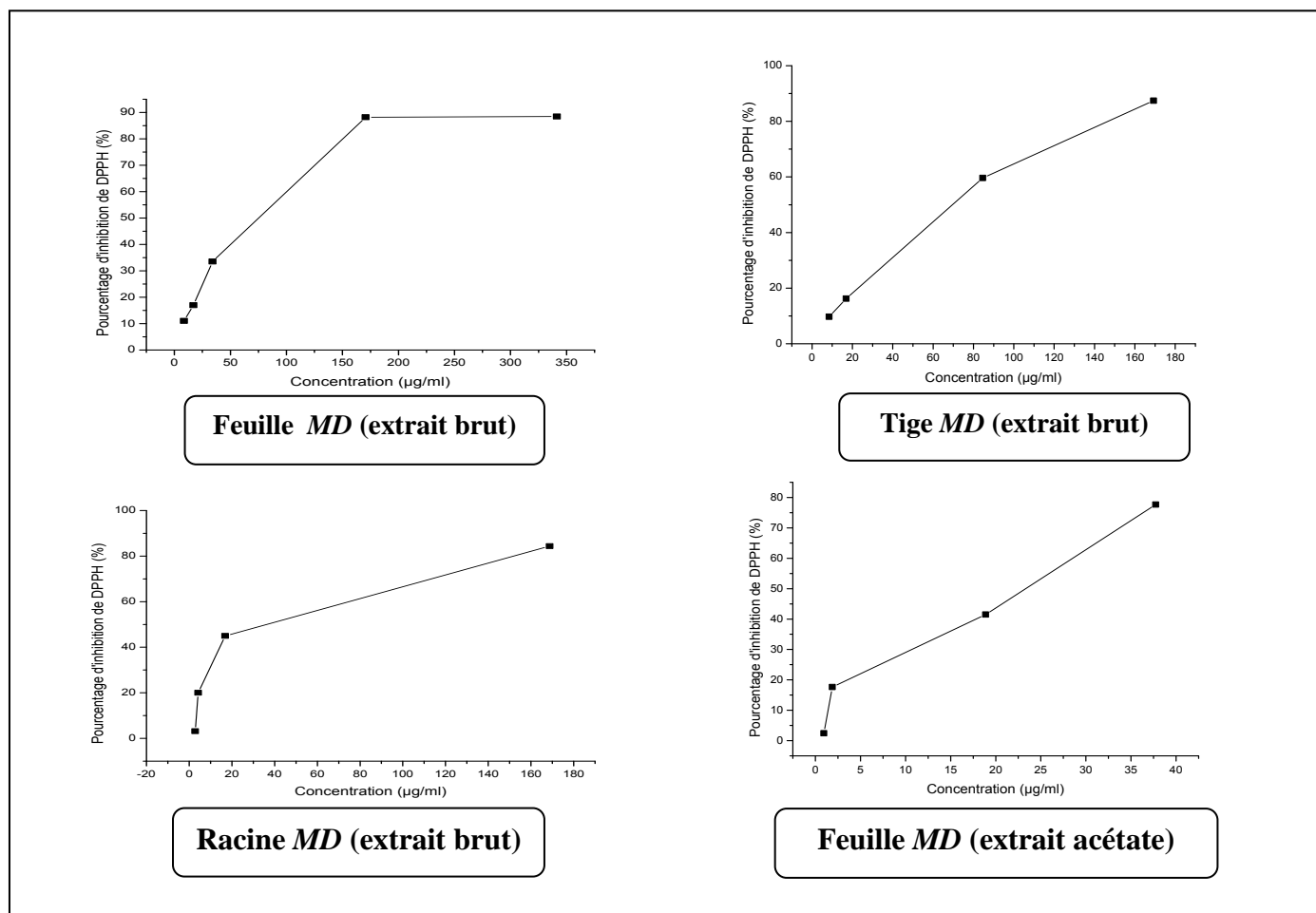
Concernant *R. tripartitum*, l'extrait acétate d'éthyle des racines sont le plus active avec un IC_{50} de 3.47 suivit par les feuilles et les tiges avec IC_{50} de l'ordre de 4.55, 4.92 $\mu\text{g/ml}$ respectivement. Ces IC_{50} sont semblables à celui de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 3,53 \mu\text{g/ml}$) (Figure 41), (Annexe IV.2).

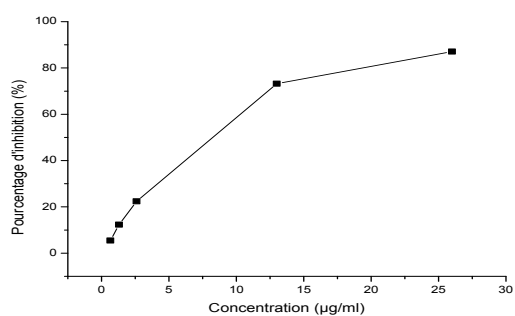
Tandis que l'extrait brut et n-butanol des racines, des feuilles et de tiges montraient également de bons effets inhibiteurs avec des valeurs de l'ordre de l'extrait brutes : 7.05, 17.27, 7.40 $\mu\text{g/ml}$ et de l'extrait n-butanol : 12.9, 20.92, 10.01 $\mu\text{g/ml}$. Pour les graines on a une faible activité dans les différents extraits.

Les résultats (Chetoui et al., 2013) montrent un IC_{50} de l'ordre 17.01 $\mu\text{g/ml}$ et 8.09 $\mu\text{g/ml}$ pour les feuilles et les tiges respectivement, et les résultats de l'études en Tunis par (Mahjoub et al., 2010) qui a été enregistré un IC_{50} des parties aériennes 14,4 $\mu\text{g/ml}$, donc sont en accord de nos résultat.

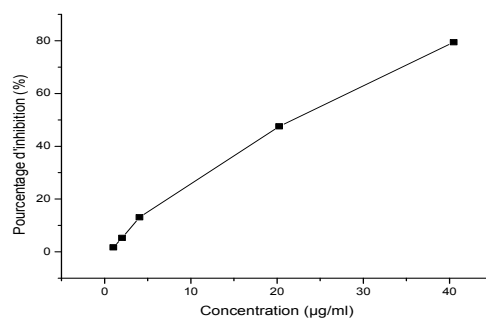
- *Micromeria debilis*

Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH dans (Figure 41), (Annexe IV.2)

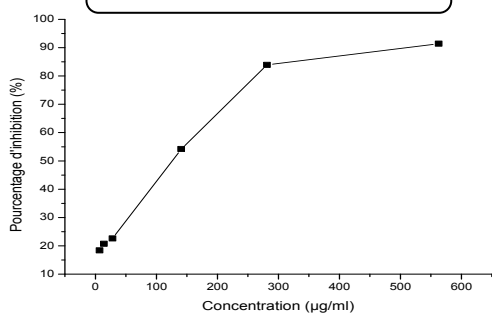




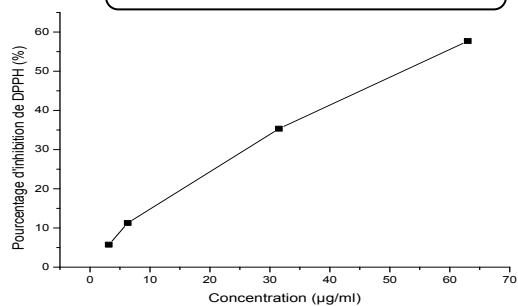
Tige MD (extrait acétate)



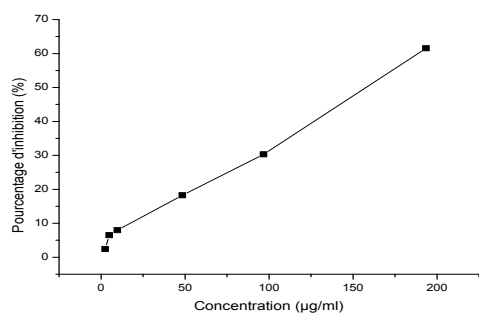
Racine MD (extrait acétate)



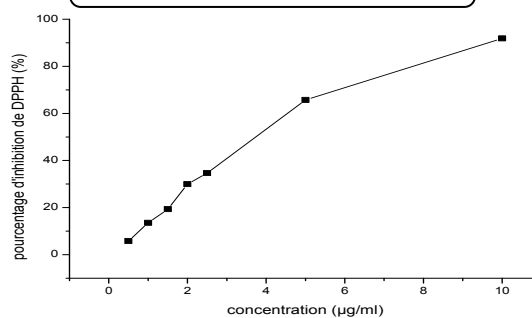
Feuille MD (extrait 1-butanol)



Tige MD (extrait 1-butanol)



Racine MD (extrait 1-butanol)



Acide ascorbique

Figure 35. Pouvoir antioxydant des extraits falvonoïques de *Micromeria debilis* et acide ascorbique.

Tableau 10. Puissance anti radicalaire des extraits méthanoliques de *Micromeria debilis* et de l'acide ascorbique

	Extrait	IC50 (µg/ml)	ARP	
<i>Micromeria debilis</i>	Feuilles	Extrait brut	47,16	0.021
		Extrait acétate	23.20	0.043
		Extrait n-butanol	129.45	0.007
	Tiges	Extrait brut	66,85	0.014
		Extrait acétate	6.341	0.157
		Extrait n-butanol	50.94	0.019
	Racines	Extrait brut	78.07	0.012
		Extrait acétate	21.523	0.046
		Extrait n-butanol	157.39	0.006
Acide ascorbique		3.53	0.28	

L'extrait d'acétate d'éthyle des tiges représente l'extrait le plus active, leur IC_{50} est 6.34µg/ml par rapport aux autres parties feuilles et racines il est de celui de l'acide ascorbique IC_{50} 3.53 µg/ml (Figure 41), (Annexe VI.2). Par contre, l'activité anti radicalaire la plus faible a été exprimée par les extraits bruts et n-butanolique dans tous les autres parties.

A notre connaissance et selon la bibliographie disponible, il n'existe pas de travaux antérieurs sur l'activité anti radicalaire des extraits méthanoliques de *Micromeria debilis*, pour cela, les résultats de cette étude ont été comparés à ceux obtenus dans les plantes de genre *saturija* (*Micromeria*).

Nos résultats sont plus fort que celui trouvent dans l'étude de (Bougandoura, 2011). Ces résultats ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle des parties aériennes est le plus actif avec $IC_{50} = 2$ mg/ml.



*Conclusion et
perspectives*

L'Algérie possède une grande diversité des plantes, en particulier des plantes médicinales qui sont importantes pour la recherche pharmaceutique en raison de la présence des composés chimiques avec des activités biologiques différentes, ces derniers sont utilisés comme des agents antimicrobiens et d'antioxydants.

Ce travail a été mené pour l'analyse phytochimique et l'évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante des extraits méthanoliques obtenus par décoction de deux plantes médicinales : *Rhus tripartitum* qui appartient à la famille de Anacardiaceae et *Micromeria debilis* qui appartient à la famille de Lamiacées.

La détermination du rendement d'extraction a été enregistrée dans les extraits méthanoliques de *Rhus tripartitum*, pour les graines 38% suivies par les feuilles, tiges et racines et pour *Micromeria debilis*, dans les feuilles 20.45% et les autres parties sont similaires 10%.

L'analyse par chromatographies sur couche mince d'extraits méthanoliques a permis de caractériser la nature des composés chimiques, des espèces étudiées, qui ont montré la présence des contenus flavoniques homogènes et des composés phénoliques dans *Rhus tripartitum*, et plus des composés phénoliques que des flavonoïdes dans *Micromeria debilis*.

Le dosage des phénols totaux de l'extrait méthanolique de deux plantes médicinales *Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis* a révélé des fortes teneurs considérables dans les racines de *Rhus tripartitum* 497.17 mg GAE/g suivies par les autres parties alors que, des teneurs modérées ont été enregistrées dans les différentes parties d'extraits de *Micromeria debilis*.

D'autre part, le dosage des flavonoïdes a montré que *Rhus tripartitum* ont des teneurs plus élevées dans les tiges et les racines de l'ordre de 132.06 et 174.93 mg CEQ/g respectivement. En ce qui concerne *Micromeria debilis*, les résultats obtenus montrent que les teneurs modérées sont présentes dans les tiges et les racines.

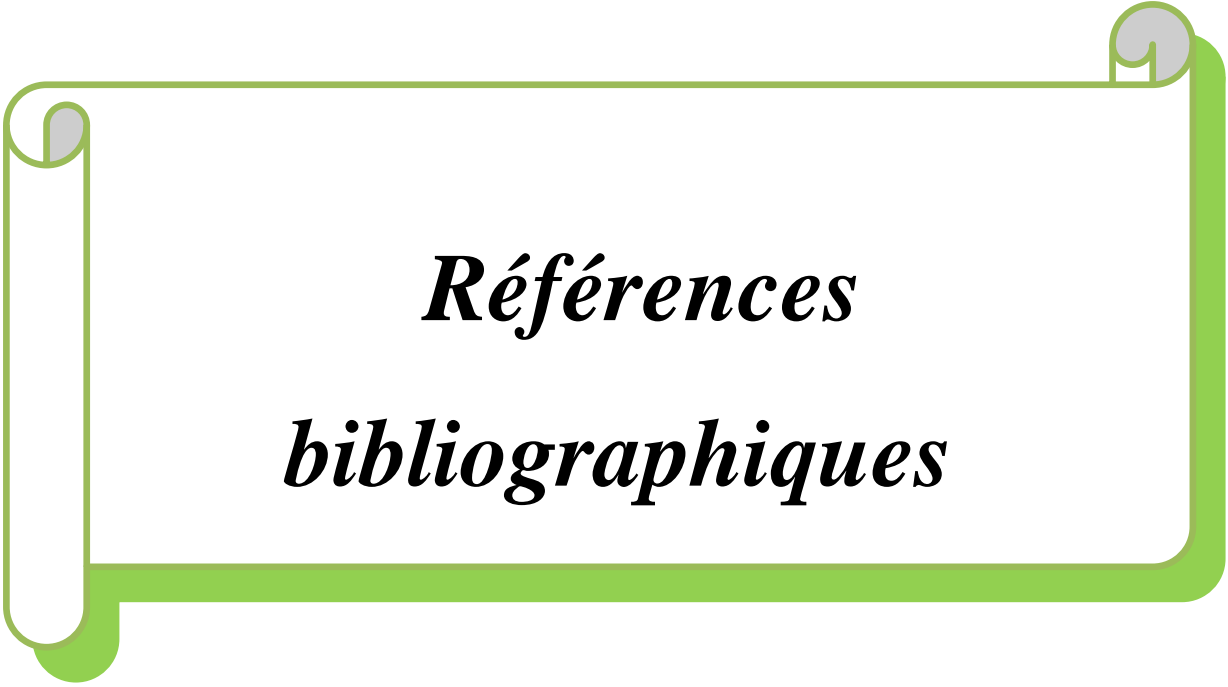
En ce qui concerne le pouvoir antimicrobien des extraits organiques de deux plantes, nous avons remarqué une activité antibactérienne vis-à-vis des souches de gram positif, mais pour les souches à gram négatif seul *Pseudomonas aeruginosa* est sensible. Le reste des souches testées ont été résistantes.

Par ailleurs, l'étude du pouvoir antifongique de nos extraits méthanoliques, seuls les tiges et les racines de *Rhus tripartitum* ont révélé un effet positif vis-à-vis de *Candida albicans*. Concernant les champignons filamenteux, l'action de l'extrait des tiges et des feuilles est plus

active sur *Penicillium.sp* de l'ordre 61.68 et 48.75 % successivement, et toutes les parties de *Micromeria debilis* ont une activité antifongique faible

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH a confirmé les propriétés puissantes que possèdent les flavonoïdes à piéger les radicaux libres. Nous remarquons que l'activité antioxydante du piégeage du DPPH• plus fort dans l'extrait d'acétate d'éthyle des racines (ARP = 0.28) suivi par les feuilles (ARP = 0.21) et les tiges (ARP = 0.20) de *Rhus tripartitum* et dans l'extrait d'acétate d'éthyle des tiges (ARP = 0.15) de *Micromeria debilis* est comparable à celle de l'acide ascorbique (ARP = 0.28).

- Les études futures devront compléter l'identification des composés bioactives des extraits de ces plantes par l'utilisation des techniques plus avansent comme HPLC, spectrophotomètre de masse.....ect.
- Ensuite déterminer, isoler et purifier les substances antioxydantes à partir des extraits de *Rhus tripartitum* et de *Micromeria debilis*.
- Investiguer profondément les racines de la plante *Rhus tripartitum* en cherchant d'autres composés avec d'autre activités biologiques.



*Références
bibliographiques*

- Abbassi F and Hani K, 2012. In vitro antibacterial and antifungal activities of *Rhus tripartitum* used as antidiarrhoeal in Tunisian folk medicine. *Nat. Prod. Res*, 26, pp 2215–2218.
- Marouf A, Requand J, 2007. *La botanique de A à Z*. Ed. *Dunod*. Paris. 177p.
- Ahmed M.S, Galal A.M, Ross S.A, Ferreira D, El Sohl M.A, Ibrahim A.R.S, Mossa J.S, El-Feraly F.S, 2001. A weakly antimalarial biflavanone from *Rhus retinorrhoea*. *Phytochemistry* 58, pp 599–602.
- Al-Hajj N.Q.M, Wang H.X. Ma, Lou C and Bashari M, 2014. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of aromatic medicinal plants (*Pulicaria inuloides*-Asteraceae and *Ocimum forskolei*-Lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13 (8), pp 1287-1293.
- Alimi H, Mbarki S, Barka Z.B, Feriani A, Bouoni Z, Hfaeidh N, Sakly M, Tebourbi O and Rhouma K.B, 2013. Phytochemical, antioxidant and protective effect of *Rhus tripartitum* root bark extract against ethanol-induced ulcer in rats. *Gen. Physiol. Biophys*, 32, pp 115–127
- Alves M.J, Ferreira I.C.F.R, Froufe H.J.C, Abreu R.M.V, Martins A and Pintado M, 2013. Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies. *Journal of Applied Microbiology*, pp 01-12.
- Amlan K, Patra J.S, 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71, pp 1198-1222.
- Amy wang, Siavash K. Kurdistani and Michael grunstein, 2016. *Science*, New Series, Vol. 298, No. 5597, pp 1412-1414. Published by: American Association for the Advancement of Science Stable URL: <http://www.jstor.org/stable/3832790> Accessed: 17-09- 22:58 UTC.
- Andrés-Hernández A.R and Terrazas T, 2009. Leaf architecture of *Rhus* s.str. (Anacardiaceae) (PDF). *Feddes Repertorium*. 120 p.
- Ashokvardhan T, Rajithasri A.B, Prathyusha P and Satyaprasad K, 2014. « Actinomycetes from *Capsicum annuum* L. Rhizospheres soil have the biocontrol potentiel against pathogenic fungi ». *Int. J. Curr. Micobiol. App. Sci*3 (4), pp 894 – 903.
- Atawodi S. E, 2005. Antioxidant potential of African plants. *African J. of Biotec*.4, 2, pp 128-133.
- Badiaga M, 2011. Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* (smith). Une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de Doctorat, Université de Bamako, 137 p.
- 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 – Option : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse, Université Aboubakr Belkaïd, (Tlemcen), 109p.

- Ben Barkaa Z, Aouadhib C, Tlilia M, Alimic H, Ben Mileda H, Ben Rhoumaa K, Saklya M, Ksourid R, Schneidere Y.J, Maarouf A and Tebourbia O, 2016. Evaluation of the anti-diarrheal activity of the hydromethanolic root extract of *Rhus tripartita* (Ucria) (Anacardiaceae). *Biomedicine & Pharmacotherapy, Tunisia* : 83, pp 827–834.
- Ben Mansour H, Yatouji S, Mbarek S, Houas I, Delai A and Dridi D, 2011. Correlation between anticholinesterasic and antioxidant activities of three aqueous extracts from Tunisian *Rhus pentaphyllum*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob*, 32, pp 1–10.
- Bougandoura Nabila, 2011. Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha ssp nepta* (nabta) et *Ajugaiwa L.* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Thèse de Magister, Université d'Tlemcen, 125 p.
- Bouras A. D, 2004. L'oxydation des lipides in *Biochimie alimentaire*. Edition. OPU, Alger. pp 69-72.
- Bourgaud F, 2013. Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; exemple de l'apport des sciences cognitives à la productions/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt, 99,3.
- Amel Bouzabata, 2017. Les médicaments à base de plantes en Algérie : réglementation et enregistrement, DOI 10.1007/s10298-016-1089-5, 15, pp401-408.
- Brunton Jean, 2009. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 4ème Ed. Paris : Technique et Documentation, 1289 p.
- Çolak F., Savaroğlu F., İlhan S, 2009. Antibacterial and Antifungal Activities of *Arum maculatum L.* Leaves Extracts. *Journal of Applied biological Sciences*, 3, 3, pp13-16.
- Chandra M, Prakash O, Kumar Bachheti R, Kumar M and Kumar Pant A, 2013. Essential oil composition and pharmacological activities of *Micromeria biflora* (Buch.- Ham. Ex D. Don) Benth. Collected from Uttarakhand region of India. *J. Med. Plant Res*, 7, pp 2538–2544.
- Chang Y, Yang C, Sun R, Cheng Y, Kao W and Yang P, 2013. Rapid single cell detection of *Staphylococcus aureus* by aptamer-conjugated gold nanoparticles. *Scientific reports*, 3, pp 1-7.
- Favier A, 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, pp 108-115.
- Ferrari J, 2002. Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat, l'université de Lausanne. 242 p

- Formisano C, Oliviero M, Rigano D, Saab A M and Senatore F, 2014. Chemical composition of essential oils and in vitro antioxidant properties of extracts and essential oils of *Calaminthaoriganifolia* and *Micromeria myrtifolia*, two Lamiaceae from the Lebanon flora. *Ind. Crop. Prod.*, 62, pp 405–411.
- Ghedadha N, Hambaba L, Ayachi A, Aberkane M.C, Bousselsela H, Oueld- Mokhtar, S.M, 2015. Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubiumdeserti* de Noé, *Phytothérapie*, méthanoliques de *phragmantheracapitata* (Loranthaceae) récoltée sur Citrussinensis, *journal of applied biosciences*, 84, pp7636–7643.
- Gherib mohamed, 2009. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle et des flavonoides d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* .L. ssp. *sahariensis*; *Artemisia campestris* L; *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth. Et Cou. Thèse de Magister, Université d'Tlemcen, 133 p.
- Gulluce M, Sokmen M, Sahin F, Sokmen A, Adiguzel A and Ozer H, 2004. Biological activities of the essential oil and methanolic extract of *Micromeria fruticosa* (L) Druce ssp. *serpyllifolia* (Bieb) PH Davis plants from the eastern Anatolia region of Turkey. *J. Sci. Food Agric*, 84, pp 735–741.
- Hartmann T, 2007. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*,68, pp 2831–2846.
- Hassine M, Aydi-Ben Abdallah R, Jabnoun-Khiareddine H et Daami-Remadi M, 2014. «Pouvoir antifongique des *Penicillium* sp. et des *Gliocladium* spp. contre *Alternaria solani* in vitro et sur fruits de tomate». *Journal of Medicinal Plants and Natural Products (TJMPNP)*, Tunis, 12 , pp9-28.
- Haxhe J.J,Zumofen.M, 1999. Notions d'hygiène hospitalière.Faculté de médecine. Université catholique de Louvain.41 p
- Hirsch, 2000. Le Journal du sida / n ° 124 . Disponible sur : www.journaldusida.org/ressources/101/jds-n124---04-2000.pdf (consulté le 03/12/2018).
- Irani P and Hesamzadeh S M, Hejazi and Tabaei Aghdaei S R, 2014. Karyological study on four species of *Satureja* (Lamiaceae) in Iran. *Int. J. Biosci.*, 4, pp 229–240
- Iserin P, 2007. *Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins.* (ed.). *Larousse*,pp 14-15.
- Jensen G. B, Hansen,B. M, Eilenberg J, et Mahillon. J, 2003. The hidden lifestyles of *B. cereus* and relatives. *Environ. Microbiol*, 5,., doi: 10.1046/ j.1462-2920. pp 631–64.
- Joshi S.G, Litake G.M, 2013. *Acinetobacter baumannii*: An emerging pathogenic threat to public health. *World J Clin Infect Dis*, 3, pp25-36.

- Kamra D.N, Patra A.K, Chatterjee P.N, Ravindra K, Neeta A and Chaudhary L.C, 2006. Effect of plant extracts on methanogenesis and microbial profile of the rumen of buffalo: a brief overview. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, pp 48, 175–178.
- Kang S, Demers J, Jimenez-Gasco M and Rep M, 2014. «*Fusarium oxysporum* ». Springer-Verlag Berlin Heidelberg (outside the USA). All rights reserved, pp 99-119.
- Kanoun, 2011. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). pp 30-48.
- Kavbouche, Z, Boutaghane N, Iaggoune S et Kabouche K, (2005). *International journal of aromatherapy*, (15), 129-133.
- Khaldi A, Meddah B, Moussaoui A, Benmehdi H, 2012. Screening phytochimique et effet antifongique de certains extraits de plantes sur le développement in vitro des moisissures. *European Journal of Scientific Research* 80(3), pp 311-321.
- Kim J S, Kwon Y S, Chun W J, Kim T Y, Sun J, Yu C Y and Kim M J, 2010. *Rhus verniciflua* Stokes flavonoid extracts have anti-oxidant, antimicrobial and α -glucosidase inhibitory effect. *Food Chemistry*, 120 (2), pp 539- 543.
- Kone D, 2009. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes, extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leurs activité antioxydante. Thèse de doctorat chimie organique. Université de Bamako, 157p.
- Konkon N G, Simaga D and Adjoungova A, 2006. Etude phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique», *Pharm Méd Trad Afr*. Vol. 14, pp 73-80.
- Krief S, 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, Muséum national d'histoire naturelle. 32p.
- Laccourreye O, Werner A, Laccourreye L and Bonfils P, 2016. Pitfalls and risks of phytotherapy in clinical practice in otorhinolaryngology. Elsevier Masson SAS, All rights reserved, *Benefits*, 96 p.
- Ladoh Yemeda C.F, Dibong, S.D, Nyegue M.A, Djembissi Talla R.P, Lenta Ndjakou, B, Mpondo Mpondo, E, Yinyang J, Wansi J.D, 2014. Activité antioxydante des extraits
- Lee S K, Jung H.S, Eo W K, Lee S.Y, Kim S.H and Shim B.S, 2010. *Rhus verniciflua* Stokes extract as a potential option for treatment of metastatic renal cell carcinoma: report of two cases, *Ann. Oncol.* 21, pp 1383–1385.
- Le Floc'h E, Boulous L, 2008. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Tunis, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, 2ème partie. Imp. of Rep. Tunisia, 402 p.

- Lehucher-Michel M.P, Lesgards J.F, Delubac O, Stocker P, Durand P, Prost M, 2001. Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse médicale*, 30, pp 1076-1081.
- Mahjoub M A, Ammar S and Zine Mighri Z, 2006. A new biflanonoid and an isobiflavonoid from *Rhus tripartitum*. *Nat. Prod. Res.* 8, pp 723–729.
- Mahmoud A, Zahran W. A, Hindawi G. R, Labib A. Z and Galal R, 2013. Prevalence of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients with nosocomial infections at a university hospital in Egypt, with special reference to typing methods. *Journal of Virology & Microbiology*. pp 1-13.
- Mamyrbekova-Bekro J, Boua B.B, Kouassi K.C et Békro Y. A, 2012. l'analyse qualitative et pharmacologique de 2 plantes anti-hypertensives utilisées à N'gramanssabo en Côte d'Ivoire. *Nature & Technologie. Sciences Agronomiques et Biologiques*. N° 08, pp 02-12.
- Manach C, Scalbert A, Moraud C, Remesy C, Jameney L, 2004. Polyphenols sources and biovariability. *American journal of cilinical nutrition*, 79, pp 727-747.
- Manallah A, 2012. Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.
- Mauro N. M, 2006. Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, pp16-28.
- Rakotonanahary M, 2012. Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. pp16- 28.
- Marinkovic B, Marin P D, Knezevic-Vukcevic J, Sokovic M D and Brkic D, 2002. Activity of essential oils of three *Micromeria* species (Lamiaceae) against micromycetes and bacteria. *Phytother. Res.*, 16, pp 336–339.
- Meddour A, Yahia M, Benkiki N, Ayachi A, 2011. Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *capparis spinosa*. *Lebanese science journal, Vol. 14, No. 1*, pp 50-60.
- Méar J. B, Kipnis E, Faure E, Dessein R, Schurtz G, Faure K, Guery B, 2013. *Candida albicans* and *Pseudomonas aeruginosa* interactions: More than an opportunistic criminal association?. *Médecine et maladies infectieuses*, 43, pp 146-151.
- Michellin Kansole R, 2009. Etude ethnobotanique phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkinafaso. Diplôme d'études approfondies (D.E.A). Université Ouagadougou, 76 p.

- Midoun T, 2011. Extraction des composés phénoliques et étude leur activité antioxydant par la voltametrie cyclique. Mémoire de Master en Sciences de la matiere, Spécialité : chimie appliquée, Université Kasdi Merbah Ouargla, 65p.
- Mokrani A, Mindjou S, Bachir-Bey M, et Louaileche H, 2009. Evaluation du pouvoir antioxydant de quelques variétés d'ail. Université Abderrahmane MIRA de Béjaia, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Alimentaires et Département de biologie physico-chimique. Route de Targa-Ouzemour, 06000, Béjaia.
- Mourouge Saadi Alwash, Nazlina Ibrahim and Wan Yaacob Ahmad, 2013. Bio-guided study on melastoma malabathricum linn leaves and elucidation of its biological activities. American Journal of Applied Sciences, 10, 8, pp 767-778.
- Moutinho C. (2013). Antispasmodic activity of aqueous extracts from *Mentha piperita* native from Trás-os-Montes region (Portugal). International Journal of Indigenous Medicinal Plants, 29(1), pp 1167-1174.
- Muanda F, 2010. Identification de polyphenols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat. Université de Paul Verlaine- Metz. 216 p.
- N'Guessan J.D, Boni A.R, Zirihi G.N, Djaman A.J, 2009. Relation entre les activités antioxydantes et les teneurs en polyphénols de six plantes de la pharmacopée ivoirienne. Laboratoire de pharmacodynamie biochimique, UFR biosciences, Université de Cocody-Abidjan, Abidjan, Côte d'Ivoire.
- Nguyen minhtri M, 2007. «Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialise dans cinq provinces de la region centrale du vietnam - etude des conditions pouvant reduire la production des mycotoxines». Thèse de doctorat. 147p.
- Obame Engonga L, 2009. Etude Phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines. Université D'Ouagadougou unité de formation et de recherche sciences de la Vie et de la Terre (UFR-SVT), 201p.
- Pauline loison, 2013. Etude de la spore de *Bacillus subtilis* : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance. Biotechnologies. Université de Bourgogne. Français.
- Patrick B, Jean L, and Michel S, 1988. Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1^{er} Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. pp 100-108-274.
- Prescott L. M, Harley J. P, et al, 2010. Microbiologie. Bruxelles : 3^{ème} édition.
- Philippon A, 2008. Resistance bacterienne: definition, mecanisme, evolution. EMC. (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladie infectieuse. 8-006-N-10.

- Rached Wahiba, 2009. Evaluation du potentiel antioxydant de s plantes médicinales et analyse phytochimiques. Université d'oran. pp 173.
- Rodolphe E, Spichiger V, Savolainen M, Figeat D J, 2004. Botanique systématique des plantes à fleurs. Presses polytechniques et universitaires romandes. 413p.
- Rolland Y, 2004. Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux corps gras lipides journal, 11, 6, pp 419- 424.
- Rwangabo P C, 1993. La médecine traditionnelle au Rwanda Karthala Editions, 258p.
- Steven P, Rachel C, Martha E, Paul H, Jane S, and Peter W.J, 2004. Microbiology of Waterborne Diseases. Ed Elsevier Academic Press. pp 71-132.
- Tabuti J R S, Lye K A and Dhillion S S, 2003. Traditional herbal drugs of Bulamogi Uganda: plants, use and administration. Journal of Ethnopharmacology, 88, pp 19-44.
- Tebourbi O, Trabelsi C, Nasr C B and Sakly M., 2006. Antioxidant activity of extract of *Rhus oxyacantha* root cortex. Indian J. Exp. Biol. 44, pp 246–249.
- Wallace R.J,2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of Nutrition Society*, (63), pp 621-629.
- Wang A et al, 2002. Requirement of Hos 2 histone deacetylase for gene activity in yeast. *Science* 298(5597), pp 4-1412.
- Wayne L. Nicholson and Andrew C. Schuerger, 2005. Bacillus subtilis Spore Survival and Expression of Germination-Induced Bioluminescence After Prolonged Incubation Under Simulated Mars Atmospheric Pressure and Composition: Implications for Planetary Protection and Lithopanspermia, 5, 4, 10 p.
- Wendpoulomé AD Kaboré, Ali Konaté , Evariste Bako , Touwendsida Serge Bagré , Sylvie Boisramé, Fathia Chandad, Alfred S Traoré, Nicolas Barro, Lassana Sangaré, 2016. Détection d'Acinetobacter baumannii, agent pathogène opportuniste et multirésistant dans les infections bucco-dentaires à Ouagadougou, Burkina Faso, pp 105-106 .
- Wu T, Mccallum J L, Wang S, Liu R, Zhu H and Tsao R, 2013. Evaluation of antioxidant activities and chemical characterisation of staghorn sumac fruit (*Rhus hirta* L.). Food Chemistry, 138 (2-3): pp 1333- 1340.



Annexes

Annexe I

Rendement des extraits secs des plantes étudiées

An. I.1. Rendement des extraits secs des deux espèces *Rhus tripartitum* et *Micromeria debilis*

	<i>Rhus tripartitum</i>	<i>Micromeria debilis</i>
Graines	38.22	
Feuilles	22.86	20.45
Tiges	19.21	10.05
Racines	22.71	10.04

Annexe II

Dosages de polyphénols et des flavonoïdes

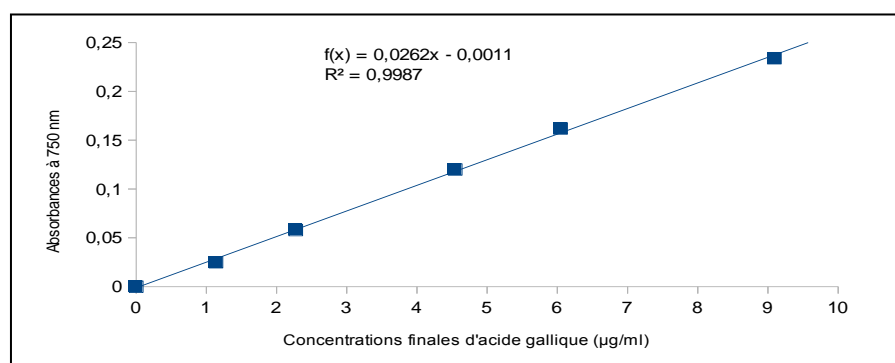
An. II.1. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les parties d'extrait méthanolique de Plante *Rhus tripartitum*

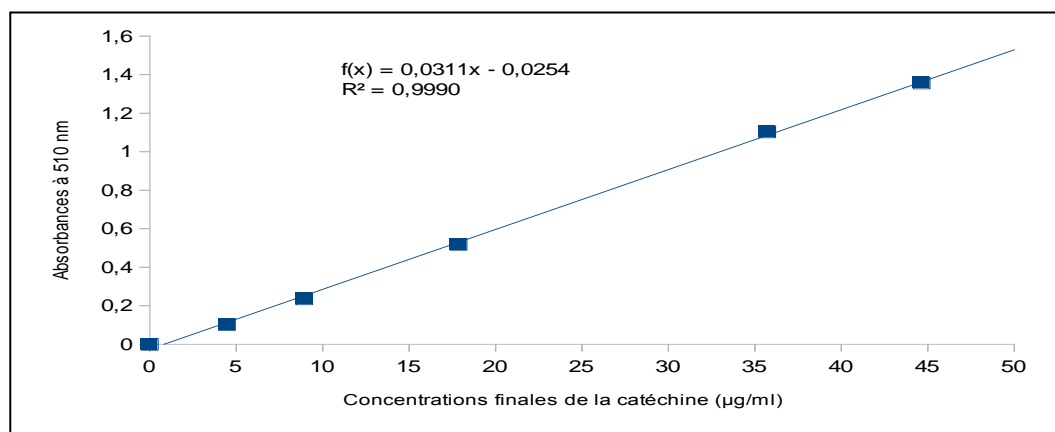
		Graines	Feuilles	Tiges	Racines
<i>Rhus tripartitum</i>	Polyphénols (mg GAE/g)	82.366 ± 0.00	95.0301 ± 0.00	138.214 ± 0.00	497.15 ± 0.00
	Flavonoïdes (mg CEQ/g)	9.1944 ± 0.00	6.454 ± 0.07	132.069 ± 0.02	174.938 ± 0.04

An.II.2. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les parties d'extrait méthanolique de Plante *Micromeria debilis*

		Feuilles	Tiges	Racines
<i>Micromeria debilis</i>	Polyphénols (mg GAE/g)	65.220 ± 0.00	129.107 ± 0.00	122.026 ± 0.00
	Flavonoïdes (mg CEQ/g)	51.572 ± 0.01	47.976 ± 0.00	40.120 ± 0.00

An.II.3. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols

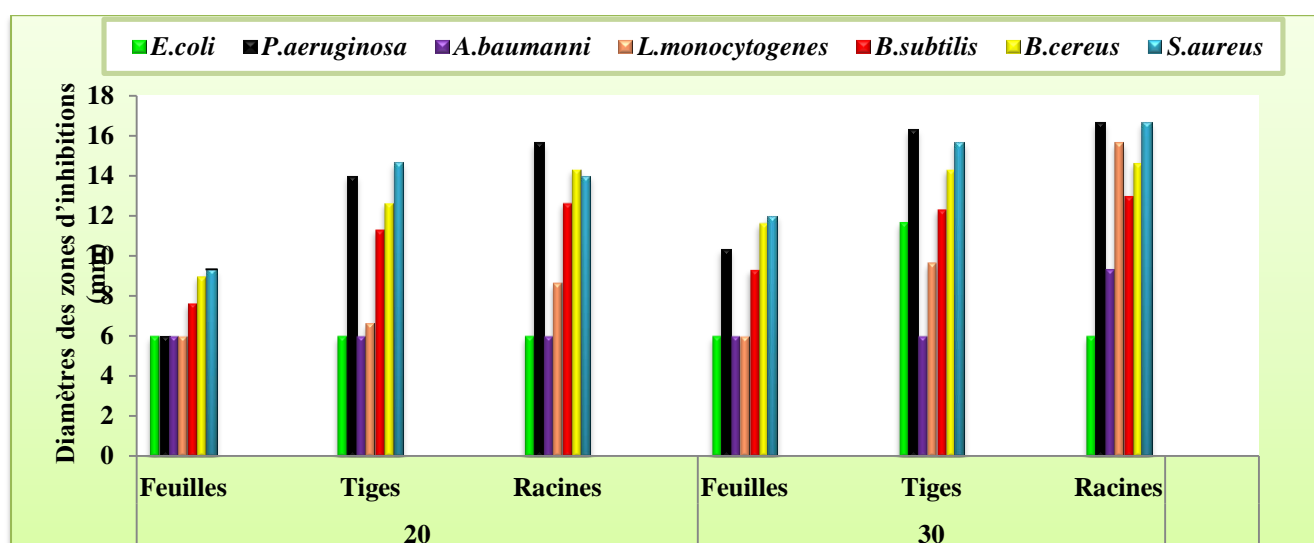
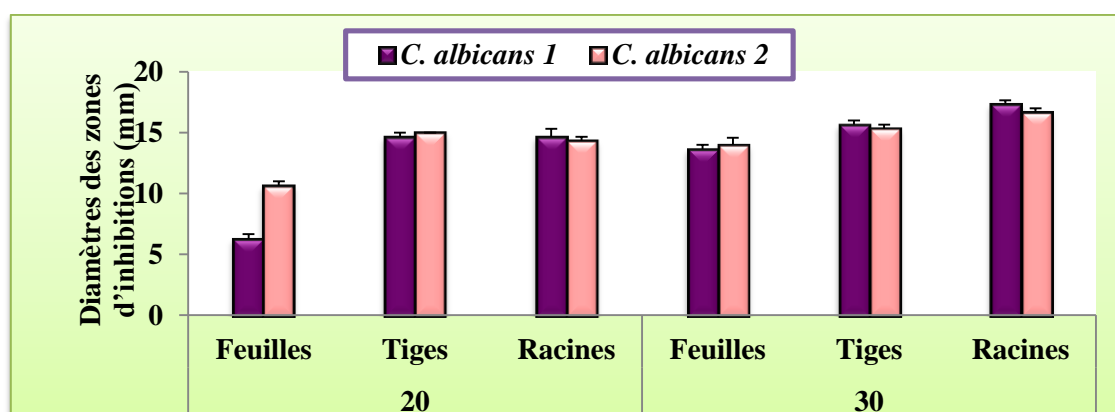
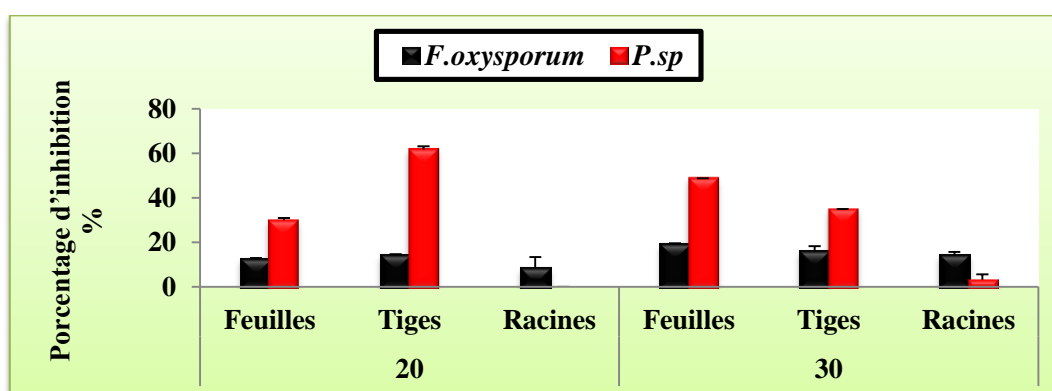


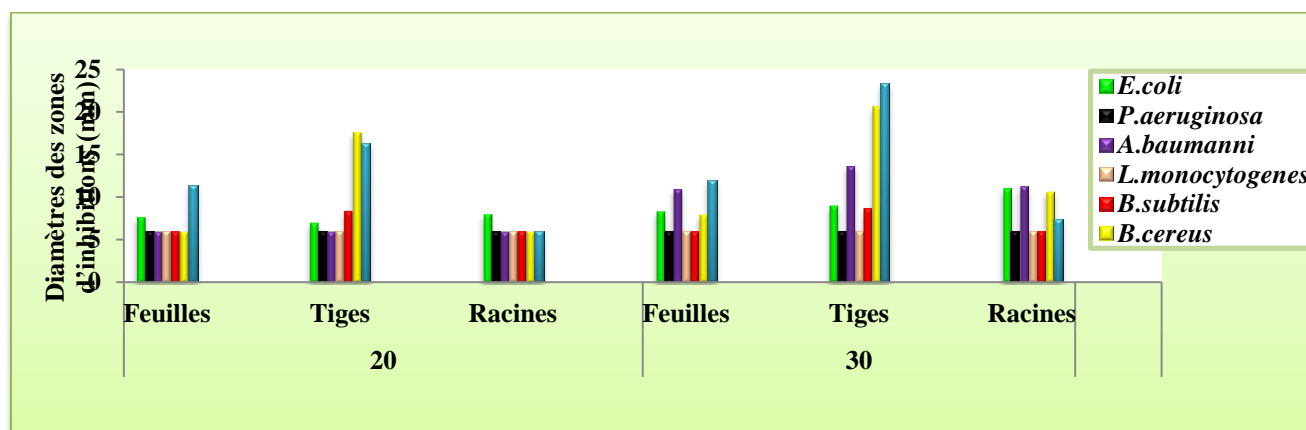
An.II.4. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes**Annexe III****Activités antimicrobienne****Sensibilité aux antibiotiques et aux antifongiques****An.III.1.** Diamètres des zones d'inhibition en (mm) des antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes

Antibiotiques	Souches bactériennes							DMSO
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	
AML 2	18 ± 0.5	29.5 ± 0.5	06 ± 0.00	30 ± 0.00	7.5 ± 0.5	06 ± 0.00	32 ± 0.00	06
P 1	06 ± 0.00	23 ± 1	06 ± 0.00	24 ± 0.00	06 ± 0.00	06 ± 0.00	31 ± 0.00	06
VA	06 ± 0.00	21 ± 0.00	06 ± 0.00	18 ± 0.00	13 ± 0.00	12 ± 0.00	14 ± 0.5	06

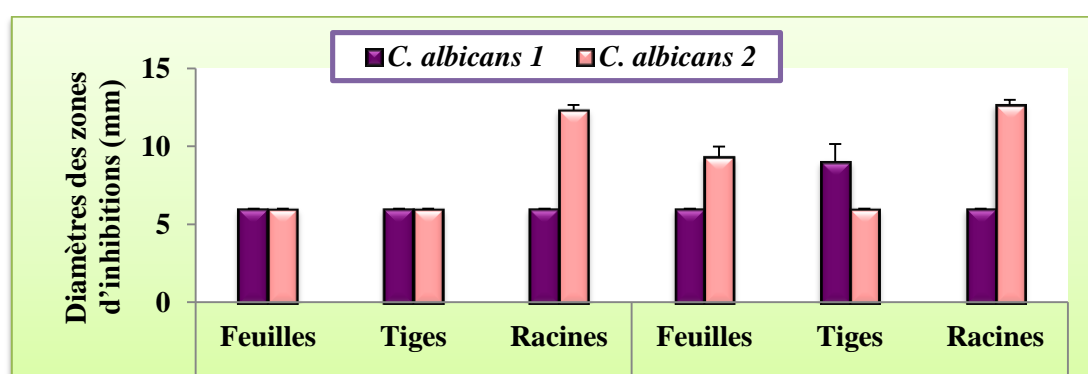
An.III.2. Diamètres des zones d'inhibition en (mm) des antibiotiques vis-à-vis des souches fongiques

Levures et champignons	Nystatine	DMSO
<i>C.albicans 1</i>	30 ± 0.00	06
<i>C.albicans 2</i>	28 ± 0.00	06
<i>F.oxysporum</i>	16 ± 0.50	06
<i>Penicillium.sp</i>	0	06

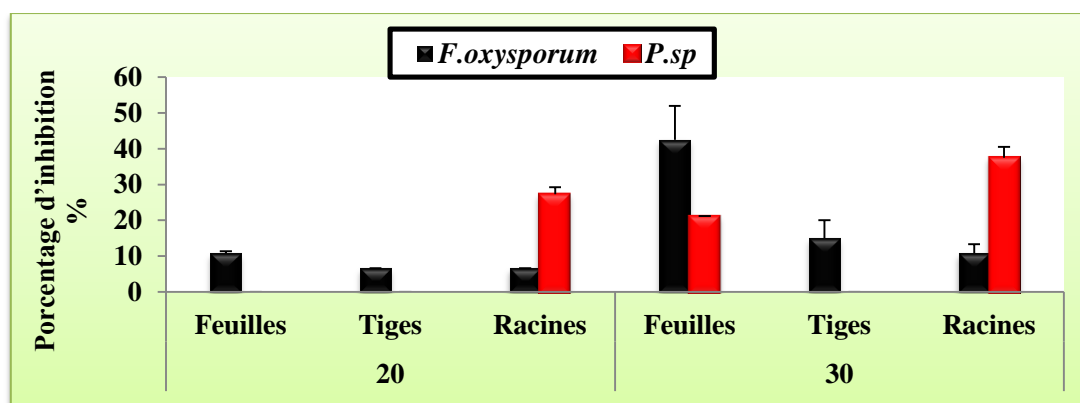
An.III.3. Pouvoir antibactérien des extraits de la plante *Rhus tripartitum*An.III.4.1 Pouvoir antifongique (levures) des extraits de la plante *Rhus tripartitum*An.III.4.2 Pouvoir antifongique (champignons) des extraits de la plante *Rhus tripartitum*An.III.5. Pouvoir antibactérien des extraits de la plante *Micromeria debilis*



An.III.6.1 Pouvoir antifongique (levures) des extraits de la plante *Micromeria debilis*



An.III.6.2 Pouvoir antifongique (champignons) des extraits de la plante *Micromeria debilis*



Composition des milieux de culture

Gélose nutritive :

- extrait de viande : 1,0g/L
- extrait de levure : 2,5g/L
- peptone : 5,0g/L
- chlorure de sodium : 5,0 g/L
- Agar : 15,0 g/L
- pH : 7,0

Gélose sabouraud :

- Peptone : 10 g
- Glucose massé : 20 g
- Agar-agar : 15 g
- Eau distillée : 1 000 ml
- vitamines et facteurs de croissance
- pH = 6,0

Gélose Mueller Hinton :

- infusion de viande de bœuf : 300 ml
- peptone de caséine : 17,5 g
- amidon de maïs : 1,5 g
- agar : 17,0 g
- pH = 7,4

Milieu PDA :

L'infusion de pomme de terre se prépare en faisant bouillir dans l'eau 200 g de pommes de terre tranchées (lavées mais non pelées) pendant 30 minutes à 1h puis en laissant décanter le bouillon obtenu ou en le filtrant à travers un coton à fromage. On dilue ensuite en ajoutant de l'eau distillée pour un volume final d'un litre. Puis on ajoute 20 g de dextrose et 15g d'agar-agar en poudre avant une stérilisation par autoclave à 100 kPa pendant 15 minutes.

Annexe IV**Piégeage du radical libre DPPH• (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl)****An.IV.1.** L'activité antiradicalaire de l'extrait *Rhus tripartitum* (Graines, Feuilles, Tiges, Racines)

Plante	Extrait méthanolique	Concentration $\mu\text{g/ml}$	Densité optique (DO + E)	% Inhibition
<i>Rhus tripartitum</i> (Graines)	Extrait bruts	639.9	0.73 \pm 0.01	88.64
		319.95	0.08 \pm 0.00	87.56
		63.99	0.41 \pm 0.00	35.13
		31.99	0.49 \pm 0.04	23.83
		15.99	0.59 \pm 0.00	8.20
	Extrait acétate	54	0.28 \pm 0.01	54.73
		27	0.36 \pm 0.02	41.05
		13.5	0.51 \pm 0.00	17.67
		2.7	0.57 \pm 0.00	6.38
		1.35	0.59 \pm 0.00	5.21
	Extrait n-butanol	1400	0.06 \pm 0.00	90.99
		280	0.48 \pm 0.04	32.10
		140	0.47 \pm 0.00	33.47
		70	0.57 \pm 0.03	19.28
14		0.69 \pm 0.00	2.40	
<i>Rhus tripartitum</i> (Feuilles)	Extrait bruts	381	0.04 \pm 0.00	93.27
		190.5	0.04 \pm 0.00	92.12
		38.1	0.06 \pm 0.00	89.75
		19.05	0.26 \pm 0.00	56.96
		9.52	0.41 \pm 0.00	30.63
	Extrait acétate	72.25	0.05 \pm 0.01	88.62
		36.12	0.05 \pm 0.00	87.48
		7.22	0.13 \pm 0.00	71.17
		3.61	0.28 \pm 0.00	39.12
		1.80	0.36 \pm 0.00	21.38
	Extrait n-butanol	179.5	0.06 \pm 0.00	88.54
		89.75	0.07 \pm 0.00	86.65
		17.95	0.3 \pm 0.00	43.63
		8.97	0.39 \pm 0.00	27.17
4.48		0.46 \pm 0.00	15.47	
		332.75	0.06 \pm 0.00	89.83
		33.27	0.09 \pm 0.00	85.46

<i>Rhus tripartitum</i> (Tiges)	Extrait bruts	8.31	0.28 ± 0.01	57.83	
		5.54	0.46 ± 0.01	30.85	
		4.15	0.55 ± 0.00	17.5	
	Extrait acétate	91.5	0.06 ± 0.00	86.69	
		45.75	0.06 ± 0.00	85.05	
		9.15	0.10 ± 0.00	77.82	
		4.57	0.25 ± 0.00	45.99	
		2.28	0.35 ± 0.00	24.67	
	Extrait n-butanol	140.25	0.05 ± 0.00	88.93	
		70.12	0.06 ± 0.00	86.92	
		14.02	0.18 ± 0.04	61.83	
		7.01	0.3 ± 0.00	37.96	
		3.50	0.38 ± 0.00	22.8	
	<i>Rhus tripartitum</i> (Racines)	Extrait bruts	380	0.06 ± 0.00	90.42
			38	0.09 ± 0.00	85.66
9.5			0.18 ± 0.00	72.32	
6.33			0.39 ± 0.00	40.67	
4.75			0.52 ± 0.01	21.42	
Extrait acétate		114.4	0.05 ± 0.00	89.18	
		57.2	0.06 ± 0.00	86.69	
		11.44	0.06 ± 0.00	85.97	
		5.72	0.12 ± 0.00	72.81	
		2.86	0.26 ± 0.00	42.13	
Extrait n-butanol		425.5	0.03 ± 0.00	92.89	
		212.75	0.04 ± 0.00	91.61	
		42.55	0.05 ± 0.00	89.87	
		21.27	0.13 ± 0.01	73.03	
		10.63	0.27 ± 0.01	44.13	

An.IV.2. L'activité antiradicalaire de l'extrait *Micromeria debilis* (Feuille, Tiges, Racines) et de l'acide ascorbique.

Plante	Extrait méthanolique	Concentration µg/ml	Densité optique (DO + E)	% Inhibition
<i>Micromeria debilis</i> (Feuilles)	Extrait bruts	341.5	0.07 ± 0.00	88.84
		170.75	0.07 ± 0.00	88.18
		34.15	0.42 ± 0.00	33.53
		17.07	0.53 ± 0.00	16.97
		8.53	0.57 ± 0.01	11.04
	Extrait acétate	37.75	0.13 ± 0.00	77.68
		18.87	0.36 ± 0.00	41.48
		3.77	0.55 ± 0.00	10.75
		1.82	0.51 ± 0.12	17.62
		0.94	0.61 ± 0.01	2.44
	Extrait n-butanol	563	0.06 ± 0.00	91.41
		281.5	0.11 ± 0.01	83.92
		140.75	0.32 ± 0.00	54.17
		28.15	0.54 ± 0.00	22.58
		14.07	0.56 ± 0.00	20.69

<i>Micromeria debilis</i> (Tiges)	Extrait bruts	169.25	0.08 ± 0.00	87.40
		84.62	0.26 ± 0.00	59.64
		16.92	0.54 ± 0.00	16.20
		8.46	0.58 ± 0.00	9.70
		4.23	0.58 ± 0.00	9.64
	Extrait acétate	26	0.08 ± 0.00	87.11
		13	0.16 ± 0.01	73.21
		2.6	0.48 ± 0.01	22.35
		1.3	0.54 ± 0.00	12.35
		0.65	0.59 ± 0.00	5.48
	Extrait n-butanol	63	0.25 ± 0.00	57.68
		31.5	0.39 ± 0.01	35.31
		6.3	0.53 ± 0.00	11.29
		3.15	0.57 ± 0.00	5.73
1.57		0.57 ± 0.00	5.61	
<i>Micromeria debilis</i> (Racines)	Extrait bruts	168.75	0.10 ± 0.00	84.37
		16.87	0.36 ± 0.00	44.99
		4.21	0.53 ± 0.00	19.99
		2.81	0.65 ± 0.00	3.12
		2.10	0.64 ± 0.01	4.16
	Extrait acétate	40.5	0.12 ± 0.00	79.39
		20.25	0.32 ± 0.00	47.55
		4.05	0.054 ± 0.01	13.09
		2.02	0.59 ± 0.00	5.27
		1.01	0.61 ± 0.00	1.70
	Extrait n-butanol	193.5	0.23 ± 0.00	91.54
		96.75	0.42 ± 0.00	30.30
		48.37	0.49 ± 0.01	18.23
		9.67	0.55 ± 0.03	7.98
4.83		0.56 ± 0.03	6.5	
Acide ascorbique	0.5	0.89 ± 0.00	5.82	
	1	0.82 ± 0.00	13.55	
	1.5	0.76 ± 0.00	19.32	
	2	0.66 ± 0.01	29.97	
	2.5	0.62 ± 0.00	34.62	
	5	0.32 ± 0.02	65.72	
	10	0.07 ± 0.00	91.84	