

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Département : Biologie

Thème

Etude de l'activité antibactérienne et insecticide d'une plante médicinale de la région de Guelma

Présenté par :

- ❖ AYED Wiam Chems El Assil
- ❖ MOHAMEDI Randa
- ❖ AYADI Ikram

Devant le jury composé de :

Présidente :	Mme BENDJEDDOU. D	Pr	Université de Guelma
Examinatrice :	Mme BEDIQUI. S	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur :	Mme ZIDI. S	M.C.B	Université de Guelma
Co-Encadreur :	Mme HAMI. M	M.C.B	Université de Guelma

Juin 2023

Remerciements

Nos sincères remerciements vont en premier lieu à Dieu, le tout puissant, le tout miséricordieux qui nous a guidé vers la connaissance et le savoir et par sa grâce nous avons réussi à mener à bien ce travail.

Nous remercions vivement l'ensemble des membres du jury :

Madame Bendjeddou D qui nous a fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Madame Bedioui S pour l'intérêt qu'elle a accordé à ce travail en acceptant de l'évaluer.

Nous remercions notre encadreur **Madame Zidi S** et notre co-encadreur **Madame Hami M** pour leur confiance, patience et leurs conseils précieux.

Nous adressons nos sincères remerciements et notre gratitude la plus profonde à tous ceux qui nous ont aidés à l'accomplissement de ce travail. En particulier :

À Madame **Hamdiken** et Madame **Abdaoui** pour leurs disponibilité et aides précieuses.

À tous les membres et techniciens des laboratoires du département de Biologie en particulier à Madame **Wafa**, Madame **Hayate**, Madame **Ratiba**, Madame **Bahia** et Monsieur **Mehdi** pour leur gentillesse et leur permanente disponibilité.

À tous les employés du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Ibn Zohr -Guelma pour leurs valeureux conseils.

Une grande pensée est adressée également à l'ensemble des enseignants du département de Biologie, qui ont su nous donner une formation honorable durant notre cursus.

Sans oublier nos collègues et amis pour les inoubliables moments qu'on a passés ensemble.

Merci à tous.



Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, je dédie cet humble travail à :

MON HÉROS « Sebti » qui m'a aidée à devenir ce que je suis aujourd'hui, que dieu le protège
pour nous

MA REINE « Wassila » qui m'a entourée d'amour et qui a fait tout pour ma réussite, je lui
souhaite une bonne santé et que dieu la garde pour nous.

J'espère qu'un jour je pourrai leurs rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi.

Mon frère **« Wala eddine »** qui n'ont jamais cessé de me soutenir, je lui souhaite la réussite
au bac

Ma petite sœur **« Roa chems eddoha »**

A mes tantes et leurs maris et enfants, qui m'a encouragées dans ce parcours.

Sans oublier ma très chère copine **« Soulef »** et son fils **« Ghaith »** pour ses soutiens moraux
et leur conseil précieux tout au long de mes études

A mes chère binômes **« Randa »** et **« Ikram »**

Toute ma famille **« Ayed »** et **« Ayache »**

A ceux qui m'aiment vraiment.

Wiam Chems El Assil



Dédicace

Je suis ici Aujourd'hui, et je suis fier de tous ce qui j'ai accompli, grâce à dieu tout puissant.

Je dédie ce travail Avec tous mes sentiments sincères et ma gratitude À :

MON CHÈR PÈRE

Mon trésor, la personne la plus gentille et affectueuse, la source de mon courage et de
ma force.

MA CHÈRE MÈRE

Mon reine est le cœur le plus pur et la personne la plus honnête que j'aie jamais
rencontrée.

« Vos prières et vos bénédictions m'ont été d'une grande aide, Tu mérites tout le
bonheur pour tous tes sacrifices jour et nuit, que tu n'as cessé de m'offrir depuis ma
naissance jusqu'à maintenant. Que Dieu prolonge ta vie et te protège pour nous. »

MON CHÈR FRÈRE ET SWEETY SŒUR *Raouf ET Hadil*

Les étoiles qui brillent dans ma vie, mon soutien indéfectible.

« Je te souhaite une vie heureuse pleine de joie et de bonheur et un bel avenir »

MES BELLES BINÔME *Wiem ET Ikram*

« Si le temps se répète, je te choisirai à nouveau »

MES AMIES

Meriem, Hadil, Ilham, Rayene, Djoumana... Et la liste encore longue.

« Ceux avec qui le destin m'a réuni, et nous les a établis de beaux et inoubliables souvenirs,
que vos journées soient aussi douces que vous.»

À MA GRANDE MÈRE

❖ À mes tantes, mes oncles, leur marié(e) et leurs enfants je vous souhaite le bonheur

À MOI

Tu es le meilleur et tu mérites le meilleur. Reste fort ton histoire n'est pas encore finie

TOUTE MA FAMILLE

Mohamedi ET Moualkia

Randa Mohamedi



Dédicaces

Je dédie ce projet :

À MA CHÈRE MÈRE,

À MON CHER PÈRE,

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir

Et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

Je souhaite que vous trouverais ici le fruit de vos sacrifices. Que dieu vous bénisse et vous accorde une longue vie pleine de sante et de bonheur.

À MON FRÈRE "Seif" ET MA SŒUR "Houda " ET SA FILLE" Sanouma ",

Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

À MON HOMME "Hamza "

Pour ses encouragements et son soutien moral, et pour leur entente et leur sympathie.

Merci d'être toujours là pour moi.

À MON CHER GRAND-PÈRE,

Qui m'a inspiré et m'a soutenu depuis mon enfance, j'ai passé mon enfance à jouer avec lui

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, Qui je souhaite une bonne santé.

À mes chères amies, "*Wissem, Chaima, Chourouk, Salma*".

À mes chères trinômes, "*Randa et Wiam*"

À TOUTE MA FAMILLE. EN PARTICULIER MES TANTES POUR LEUR TENDRESSE

(Rahimahom allah)

Ayadi Ikram



Résumé

Les plantes sont utilisées depuis des siècles comme agents thérapeutiques, la présente étude a été menée pour évaluer l'effet antibactérien et insecticide de deux extraits méthanoliques et aqueux d'une plante comestible et médicinale récoltée de la région de Guelma : *Rubus fruticosus*. Des tests phytochimiques ont été réalisés sur la poudre et les différents extraits utilisés afin de détecter la présence ou l'absence de certains principes actifs (tels que les polyphénols) ayant un rôle potentiel comme substances antibactériennes et insecticides. Un dosage des polyphénols dans les différents extraits a également été réalisé. Afin d'évaluer l'effet antibactérien de la plante, différentes doses des différents extraits (2,5mg/ml, 5mg/ml et 10mg/ml) ont été préparées à partir des feuilles de la plante et testées contre des bactéries référencées : *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*. L'effet insecticide a été évalué quant à lui en administrant par voie topique et abdominale des doses de (5mg/ml, 10mg/ml et 20mg/ml) de l'extrait aqueux et (0, 625mg/ml, 1,25 mg/ml et 2,5 mg/ml) de l'extrait méthanolique, à des adultes d'un insecte ravageur des denrées stockées : *Tribolium castaneum*. Nos résultats sur le criblage phytochimique a révélé la présence dans la poudre de plante et les extraits des principaux principes actifs excepté les stérols et terpènes pour l'extrait aqueux et les flavonoïdes, saponosides et mucilages pour l'extrait méthanolique. Le dosage des polyphénols a montré la présence de quantités relativement importantes : 886 mg EAG/g d'extrait aqueux et 748.5 mg EAG/g d'extrait méthanolique. L'évaluation de l'activité antibacérienne a révélé l'efficacité des deux extraits uniquement vis-à-vis des bactéries à Gram négatif. L'extrait aqueux semble plus efficace contre *E. coli* alors que l'extrait méthanolique paraît plus efficace contre *P. aeruginosa*. Les résultats de la CMI et de la CMB nous mènent à croire que ces derniers agiraient en inhibant la croissance bactérienne. Nos résultats sur l'évaluation de l'activité bioinsecticide a montré que l'extrait méthanolique semblait plus efficace contre *T castaneum* avec un taux de mortalité élevé de 96,29% ± 6,42 dès 24h de traitement à la dose de 2,5mg/ml.

Les mots clés : *Rubus fruticosus*, Extrait aqueux, Extrait méthanolique, Polyphénols, Bactéries, CMI, CMB, Bioinsecticides, *Tribolium castaneum*.

المخلص

تم استخدام النباتات لعدة قرون كعوامل علاجية، وقد أجريت الدراسة الحالية لتقييم التأثير المضاد للبكتيريا والمبيدات الحشرية لمستخلصين ميثانولي ومائي من نبات طبي صالح للأكل يتم حصاده من منطقة قالمة: توت العليق. تم إجراء الاختبارات الكيميائية النباتية على المسحوق والمستخلصات المختلفة المستخدمة من أجل الكشف عن وجود أو عدم وجود بعض المكونات النشطة (مثل البوليفينول) مع دورهم المحتمل كمواد مضادة للجراثيم ومبيدات حشرية. كما تم إجراء جرعة من مادة البوليفينول في المستخلصات المختلفة. من أجل تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للنبات، تم تحضير جرعات مختلفة من المستخلصات المختلفة (2.5 مجم / مل، 5 مجم / مل، 10 مجم / مل) من أوراق هذا النبات واختبارها ضد البكتيريا المرجعية: الزائفة الزنجارية، العصيات القولونية وبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية. تم تقييم تأثير المبيدات الحشرية عن طريق إعطاء جرعات موضعية وبطنية (5 مجم / مل، 10 مجم / مل و20 مجم / مل) من المستخلص المائي و (0.625 مجم / مل، 1.25 مجم / مل و2.5 مجم / مل) من خلاصة الميثانول. للبالغين من آفة حشرية للمواد الغذائية المخزنة. خنفساء الدقيق الصدئية أظهرت نتائجنا على الفحص الكيميائي النباتي وجود مسحوق نباتي ومستخلصات المكونات النشطة الرئيسية ما عدا الستيرويدات والتربينات للمستخلص المائي والفلافونويدات والصابونوزيدات والصمغ للمستخلص الميثانولي. أظهر فحص البوليفينول وجود كميات كبيرة نسبياً: 886 مجم / EAG من المستخلص المائي 748.5 مجم / EAG من المستخلص الميثانولي. أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا فعالية المستخلصين فقط ضد البكتيريا سالبة الجرام. يبدو المستخلص المائي أكثر فاعلية ضد الإشريكية القولونية بينما يبدو المستخلص الميثانولي أكثر فاعلية ضد الزنجارية تفودنا نتائج CMI وCMB إلى الاعتقاد بأن هذا الأخير يعمل عن طريق تثبيط نمو البكتيريا. أظهرت نتائجنا على تقييم نشاط المبيدات الحيوية أن المستخلص الميثانولي بدأ أكثر فاعلية ضد خنفساء الدقيق الصدئية مع معدل وفيات مرتفع بلغ $96.29\% \pm 6.42$ في 24 ساعة من العلاج بجرعة 2.5 مجم / مل.

الكلمات المفتاحية: توت العليق ، مستخلص مائي، مستخلص ميثانولي، بوليفينول، بكتيريا، CMI، CMB، مبيدات حشرية حيوية، خنفساء الدقيق الصدئية

Abstract

Plants have been used for centuries as therapeutic agents, and the present study was conducted to evaluate the antibacterial and insecticidal effect of two methanolic and aqueous extracts of an edible and medicinal plant harvested from the Guelma region: *Rubus fruticosus*. Phytochemical tests were carried out on the powder and the various extracts used to detect the presence or absence of certain active ingredients (such as polyphenols) with a potential role as antibacterial and insecticidal substances. Polyphenols were also measured in the various extracts. To assess the plant's antibacterial effect, different doses of the various extracts (2.5mg/ml, 5mg/ml and 10mg/ml) were prepared from the plant's leaves and tested against reference bacteria: *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus*. The insecticidal effect was assessed by topical and abdominal administration of doses of (5mg/ml, 10mg/ml and 20mg/ml) of the aqueous extract and (0, 625mg/ml, 1.25 mg/ml and 2.5 mg/ml) of the methanolic extract, to adults of an insect pest of stored foodstuffs: *Tribolium castaneum*. Our phytochemical screening results revealed the presence of the main active ingredients in the plant powder and extracts, with the exception of sterols and terpenes for the aqueous extract and flavonoids, saponosides and mucilages for the methanolic extract. Determination of polyphenols showed the presence of relatively large quantities: 886 mg EGA/g of aqueous extract and 748.5 mg EGA/g of methanolic extract. Evaluation of antibacterial activity revealed that both extracts were effective only against Gram-negative bacteria. The aqueous extract appeared to be more effective against *E. coli*, while the methanolic extract appeared to be more effective against *P. aeruginosa*. The MIC and BMC results lead us to believe that they act by inhibiting bacterial growth. Our results on the evaluation of bioinsecticidal activity showed that the methanolic extract appeared to be more effective against *T. castaneum*, with a high mortality rate of $96.29\% \pm 6.42$ after 24 hours of treatment at a dose of 2.5mg/ml.

Key words: *Rubus fruticosus*, Aqueous extract, Methanolic extract, Polyphenols, Bacteria, MIC, MBC, Bioinsecticides, *Tribolium castaneum*.

Table des matières

Remercîments

Dédicaces

Résumé

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Première partie : Synthèses bibliographiques

CHAPITRE 1 : Généralités

I. Les plantes médicinales..... 3

I.1.Définition de phytothérapie..... 3

I.2.Historique..... 3

I.3. Définition des plantes médicinales..... 4

I.4.Domaine d'application des plantes médicinales..... 5

I.4.1. Médecine..... 5

I.4.2.Agriculture..... 5

I.4.3. Cosmétique..... 5

I.4.4. Alimentation..... 5

I.5. Les composants des plantes médicinale..... 5

I.5.1. Tanins..... 6

I.5.2. Flavonoïdes..... 6

I.5.3. Huiles essentielles..... 6

I.5.4. Saponines..... 7

I.5.5. Phénols..... 7

I.5.6. Alcaloïdes..... 7

I.5.7. Mucilages..... 8

I.6. Les activités biologiques des plantes médicinales..... 8

I.6.1. L'activité antimicrobienne.....	8
I.6.2. L'activité anticancéreuse.....	8
I.6.3. L'activité antiallergique.....	8
I.6.4. L'activité antivirale.....	8
I.6.5. L'activité anti-inflammatoire.....	9
II. La plante étudiée.....	10
II.1. Généralité.....	10
II.2. Répartition géographique.....	10
II.3. Taxonomie.....	10
II.4. Description botanique	11
II.4.1. La tige.....	11
II.4.2. Les racines.....	11
II.4.3. Les feuilles	11
II.4.4. Les fleurs.....	11
II.4.5. Les fruits.....	12
II.4.6. Les grains.....	12
II.5. Composition chimique.....	12
II.6. Usage thérapeutique et traditionnel.....	14
II.7. Propriétés biologiques.....	14

CHAPITRE 2 : Bactériologie

1. Définition.....	15
2. Différents types de bactéries.....	15
2.1. <i>Escherichia coli</i>	15
2.2. Classification.....	15
2.2.1. Habitat.....	15
2.2.2. Transmission.....	16
2.2.3. Pouvoir pathogène.....	16
2.3. <i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	17
2.3.1. Classification.....	17
2.3.2. Habitat.....	17

2.3.3. Transmission.....	17
2.3.4. Pouvoir pathogène.....	17
2.4. <i>Staphylococcus Aureus</i>	18
2.4.1. Classification.....	18
2.4.2. Habitat.....	18
2.4.3. Transmission.....	18
2.4.4. Pouvoir pathogène.....	18
3. La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	19
3.1. Rappel bibliographique.....	19
3.2. Les différents types de résistance.....	20
3.3. Antibiogramme.....	20
3.4. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	21
3.5. Concentration Bactéricide Minimum (CMB).....	21

Chapitre 03 : *Tribolium castaneum*

1. Généralité sur Tenebrionidae	22
2. <i>Tribolium castaneum</i>	22
3. Classification	22
4. Cycle de développement.....	23
4.1. Œufs.....	23
4.2. Larves	23
4.3. Nymphes.....	23
4.4. Adultes.....	23
5. Facteur de développement.....	25
6. Origine et répartition.....	25
7. Dommages commis par <i>Tribolium castaneum</i>	25
8. Moyens de lutte contre <i>Tribolium castaneum</i>	26
8.1. Lutte chimique	26
8.2. Lutte biologique.....	26
8.3. Lutte génétique.....	26
8.4. Lutte physique.....	27

Deuxième Partie : Partie expérimentale

CHAPITRE 1 : Matériel et méthodes

1. Matériel.....	28
1.1. Matériel végétal.....	28
1.2. Model expérimental.....	28
1.2.1. Les souches bactériennes testées.....	28
1.2.2. Insect testé.....	29
1.3. Milieux de culture utilisés.....	29
1.4. Réactifs utilisés.....	29
2. Méthodes.....	29
2.1. Préparation du matériel végétal.....	29
2.1.1. Préparation de la poudre de plante.....	29
2.1.2. Préparation des extraits.....	29
2.1.3. Calcul du rendement.....	30
2.2. Tests préliminaires de la composition chimique.....	30
2.2.1. Au niveau de la poudre de plante.....	30
2.2.2. Au niveau des extraits.....	31
2.3. Dosage des phénols totaux.....	32
2.4. Etude de l'activité antibactérienne.....	33
2.4.1. L'antibiogramme par la méthode de diffusion des disques.....	33
2.5. Détermination des paramètres antibactériens.....	35
2.5.1. Préparation de l'inoculum.....	35
2.5.2. Numération de l'inoculum.....	35
2.5.3. Préparation de la gamme de concentration des extraits végétaux.....	35
2.6. Etude de l'activité insecticide.....	37
2.6.1. Evaluation de l'activité bio-insecticide des extraits de <i>Rubus fruticosus</i> sur <i>T.castaneum</i>	37
2.6.2. Traitement par application topique sur <i>T. castaneum</i>	37

CHAPITRE 2 : Résultats et discussion

1. Rendement de l'extraction.....	38
2. Test préliminaires de la composition chimique.....	38
3. Dosage des phénols totaux.....	39
4. Etude de l'activité antibactérienne.....	40
4.1. Sensibilité d' <i>Escherichia coli</i> vis-à-vis des extraits et des antibiotiques.....	40
4.2. Sensibilité de <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis des extraits et des antibiotiques.....	42
4.3. Sensibilité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis des extraits et des antibiotiques.....	44
5. Détermination des paramètres antibactériens des différents extraits de la Ronce.....	46
5.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	46
5.2. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).....	47
6. Etude de l'activité insecticide.....	49
6.1. Evaluation de l'activité bio-insecticide des extraits de <i>Rubus fruticosus</i> sur <i>T.castaneum</i>	49
6.1.1. Effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> vis-à-vis des adultes de <i>Tribolium castaneum</i>	50
6.1.2. Effet toxique de l'extrait méthanolique de <i>Rubus fruticosus</i> vis-à-vis des adultes de <i>Tribolium castaneum</i>	54
Conclusion et perspectives.....	58
Annexes	
Références bibliographiques	

Liste des abréviations

Amx25 : Amoxiciline.

ATCC : American Type Culture Collection.

C₂H₅OH : Ethanol.

C30 : Chloramphénicol.

CHCl₃ : Chloroforme.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

EAG : équation de l'acide gallique.

Gen 10 : Gentamicine.

HgCl₂ : Chlorure de mercure.

INPN : Inventaire national du patrimoine naturel.

Ki : Iodure de potassium.

M : Mortalité observé

Mc : Mortalité corrigé

NH₄OH : Ammoniaque.

P10 : Péniciline.

SFM : Société Française de Microbiologie.

Va30 : Vancomycine.

DMSO: Le diméthylsulfoxyde

Liste des figures

N°	Titre	page
1	La base structurelle des flavonoïdes (Abderrazak M et Joël R, 1983).	06
2	La base structurelle de phénol (Sarni-Manchado P et Cheynier V, 2006).	07
3	<i>Rubus fruticosus L.</i> (Lim, 2012).	12
4	Nymphe de <i>Tribolium castaneum</i> (Kassimi, 2014).	24
5	les adultes de <i>T.castaneum</i> (original, 2023).	24
6	Cycle de développement de <i>Tribolium castaneum</i> (PRANAVI <i>al.</i> , 2016).	25
7	Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolum castaneum</i> après 24h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).	51
8	Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolum castaneum</i> après 48h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).	52
9	Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolum castaneum</i> après 72h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).	53
10	Effet de l'extrait methanolique de <i>Rubus Fruticosus</i> sur les adultes de <i>Triboluim castaneum</i> , sur le taux de mortalité corrigée (Mc±S, n=3 répétition comportant chacune 10 individus).	55

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Composition chimique de la partie aérienne de la ronce (Panizzi et al., 2001 ; Sisti et al., 2008 ; Martini et al., 2009 ; Chabane et al., 2014).	13
2	Composition chimique des fruits de la ronce (Hagar et al., 2008 ; Sariburum et al., 2010 ; Kylli, 2011).	13
3	Les références des souches bactériennes (Sutra et al., 1998 ; Delarras, 2007).	29
4	Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme (Chanda, 2007).	34
5	les rendements des deux extraits.	38
6	Les résultats du criblage phytochimique de la poudre et des différents extraits de Ronce.	39
7	Dosage des phénols totaux selon l'équation de l'acide gallique.	40
8	Sensibilité d' <i>E. coli</i> vis-à-vis des extraits testés.	41
9	Sensibilité d' <i>E. coli</i> vis-à-vis des antibiotiques.	41
10	Sensibilité de <i>S. aureus</i> vis-à-vis des extraits testés.	43
11	Sensibilité de <i>S. aureus</i> vis-à-vis des antibiotiques.	43
12	Sensibilité de <i>P. aeruginosa</i> vis-à-vis des extraits testés.	44
13	Sensibilité de <i>P. aeruginosa</i> vis-à-vis des antibiotiques.	45
14	Concentrations minimale inhibitrice (CMI) des différents extraits vis-à-vis des souches bactériennes.	47
15	Concentrations minimale bactéricide (CMB) des différents extraits vis-à-vis des souches bactériennes.	48
16	Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> après 24h de traitement (M±S de 3 répétitions, n=10).	50
17	Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> après 24h de traitement avec un taux de	50

	mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).	
18	Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> après 48h de traitement (M±S de 3 répétitions, n=10).	51
19	Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> après 48h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).	52
20	Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> après 72h de traitement (M±S de 3 répétitions, n=10).	53
21	Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> après 72h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).	53
22	Evaluation de l'effet toxique de l'extrait méthanolique de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> après 24h de traitement (M±S de 3 répétitions, n=10).	54
23	Evaluation de l'effet toxique de l'extrait méthanolique de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> après 24h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).	55

Première partie
Synthèse bibliographique

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes médicinales ont été exploitées depuis des milliers d'années. Elles ont été utilisées dans plusieurs domaines en raison de leur efficacité. Elles constituent une source d'une grande variété de composés biologiquement actifs et produisant 70 % de nos médicaments (**Dar et al., 2012**).

La résistance bactérienne aux antibiotiques constitue actuellement un grave problème mondial de santé publique. En effet, l'utilisation anarchique et le sous-dosage des antibiotiques en santé humaine et animale a conduit à des infections bactériennes compliquées à prendre en charge (**Manseur, 2021**).

De nombreux pays sinon tous, subissent des pertes lors du stockage des ressources alimentaires, en particulier des céréales de toutes sortes, à cause des insectes. La généralisation de l'utilisation des insecticides a entraîné l'apparition de formes résistantes d'insectes traités (**Leonard et Ngamo, 2004**).

A cet effet, de nombreux travaux récents se sont penchés sur la recherche de substances naturelles efficaces contre la résistance des bactéries et des insectes et en même temps respectueuses de la santé humaine et de l'environnement.

Rubus fruticosus (Ronce) » est une plante ligneuse dont les nombreuses tiges portent des épines. C'est une plante sarmenteuse, de la famille des Rosacées, comprenant plusieurs variétés qui poussent à l'état sauvage dans les bois, les haies, les terrains incultes (**Rameau et al., 2003**).

L'objectif principal de notre travail est d'évaluer l'activité antibactérienne et insecticide de cette plante. Pour cela, notre partie expérimentale a été subdivisée en plusieurs sous parties avec plusieurs sous objectifs :

- Préparation des extraits à différentes doses des feuilles la plante étudiée (extraits aqueux et méthanoliques).
- Etude de la composition phytochimique de la poudre de plante ainsi que des extraits obtenus.
- Dosage des principaux principes actifs à effet antibactérien et insecticide (polyphénols).

- Évaluation de l'efficacité des extraits vis-à-vis des :

- Trois souches bactériennes de références : *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).
- Adultes d'un insecte ravageur des céréales : *Tribolium castaneum*.

Chapitre N°1

Généralité

I. Les plantes médicinales

I.1. Définition de Phytothérapie

Le mot phytothérapie vient de (phyton = plante et Therapein = soigner) cela signifie essentiellement "guérir avec des plantes". La phytothérapie fait référence à la médecine à base d'extraits de plantes et d'actifs naturels (**Vacheron, 2011**).

I.2. Historique

Compte tenu des données archéologiques, il est raisonnable de supposer que les humains se sont toujours intéressés aux plantes. D'une part pour se nourrir (plantes comestibles et curare pour la chasse) et d'autre part pour se soigner (plantes médicinales) comme en témoignent les vestiges laissés par l'homme à l'époque : peintures rupestres, poteries...etc. Cependant, ce n'est qu'après la naissance de l'écriture, et grâce au développement du papier ou du parchemin, que nous avons pu enregistrer des usages spécifiques dans le temps. Les premiers écrits remontent à 5000 avant JC, notamment les tablettes d'argile sumériennes de Nippour, qui mentionnent une dizaine de recettes et plus de 250 plantes différentes, dont le coquelicot (**Petrovska, 2012**). Le premier traité médical important serait venu de Chine en 2500 av. C'est la " Shennong bencao jing", et son origine est attribuée à Shennong, un empereur mythique qui est décédé à cette époque.

Si l'origine du texte est contestée, les premières traces écrites d'utilisation des plantes sont ainsi millénaires. Le papyrus Ebers remonte à 1500 avant JC et est considéré comme le plus ancien traité sur les prescriptions médicales mentionnant des centaines de recettes à base de parties végétales, minérales ou animales. A la même époque, on retrouve des traces de l'utilisation des plantes médicinales dans la tradition indienne des Védas (**Wichtl et Anton, 2003 ; Morel, 2017**).

Au Moyen Âge en Europe, la connaissance des plantes était l'apanage des moines et de l'Église. Certaines personnalités se distinguent par leurs apports littéraires, comme Hildegarde de Bingen (1098-1179), auteur de plusieurs ouvrages sur les propriétés des plantes médicinales.

Ailleurs dans le monde, les premières écoles de médecine sont nées et de grandes civilisations ont développé leurs traditions herboristes (chinoises, mayas, incas, aztèques, le

moyen-Orient, l'Inde et l'Asie ce, qui a multiplié les découvertes et a facilité les échanges de plantes entre les pays. Parmi les personnalités marquantes de cette période, on peut citer des personnalités telles que le médecin persan Avicenne (980-1037) qui fonda l'école de médecine d'Ispahan, ou Ibn Al Baytar (1197-1298), qui écrivit le "Traité des simples" un ouvrage rapportant un ensemble de 1 400 plantes médicinales **(Cabo Gonzalez et Lanly, 1997)**.

En 1492, la découverte du continent américain avait conduit à une véritable accélération de la pratique de la médecine et de la phytothérapie ! Les grands voyages, marqués par la découverte de nouvelles terres vont de pair avec la découverte de nouvelles plantes. En effet, durant cette période des échanges de plantes et de pratiques se sont mis en place avec d'autres continents **(Wichtl et Anton, 2003)**.

En 1778, le premier diplôme d'herboriste a été décerné à Paris et le premier codex français a vu le jour en 1818. Cet ouvrage peut être considéré comme l'ancêtre de la pharmacopée, puisque les éditions de ce dernier se sont succédées jusqu'à la parution de la dernière édition de la Pharmacopée Européenne **(Morel, 2017)**.

A partir du 19^{ème} siècle jusqu'à présent, la phytothérapie a connu un virage à 180 degrés, puisque l'avènement de la chimie moderne a permis l'identification et la caractérisation des substances actives présentes dans les plantes. L'extraction des principes actifs est également devenue très efficace. En effet, la morphine a pu être isolée du pavot en 1815 et la quinine de l'écorce de quinquina en 1820. La première molécule synthétique est apparue en 1899 lorsque Bayer, a entièrement synthétisé l'aspirine. Les activités de synthèse (fabrication artificielle de molécules en laboratoire) et d'extraction sont aujourd'hui à l'origine de la quasi-totalité de nos médicaments **(Faye et Champey, 2008)**.

I.3. Définition des plantes médicinales

On appelle plante médicinale, toute plante possédant des propriétés thérapeutiques, en utilisant l'une de ses parties, que ce soit les feuilles, les fruits ou l'écorce, à des doses thérapeutiques appropriées. A certaines doses les plantes peuvent être toxiques. Les deux tiers des médicaments sur le marché sont naturels, principalement d'origine végétale **(Bruneton, 1987 ; Messaudi, 2008)**.

I.4. Domaines d'application des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées en :

I.4.1. Médecine :

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80 % de la population mondiale, en particulier dans les pays en développement, ont eu recours à des remèdes traditionnels pour leurs besoins de santé et de soins primaires. Les plantes médicinales sont utilisées en urologie, dermatologie, pour traiter les ulcères d'estomac ou les troubles nerveux. Grace à leur capacité antioxydante, elles sont également utilisées pour traiter l'athérosclérose diabétique. Elles sont également utilisées pour leur activité antibactérienne, antivirale, antifongique (Farnsworth *et al.*, 1986 ; Ibrir et Babchikh, 2015).

I.4.2. Agriculture :

L'huile de certains arbres, comme le margousier est utile à l'agriculture. Elle est utilisée pour le contrôle de divers insectes et nématodes (parasites) (Mohammedi, 2006).

I.4.3. Cosmétiques :

Les plantes médicinales sont employées dans les parfums, les produits de beauté, ainsi que les articles d'hygiène et de toilette (Porter, 2001).

I.4.4. Alimentation :

Les plantes médicinales sont utilisées : pour l'assaisonnement des aliments et des boissons, comme colorants, aromatisants, épices,...etc (Smallfield, 2001).

I.5. Les composants des plantes médicinales

Les principes actifs sont des molécules présentes dans les médicaments contenant des plantes médicinales. Ils sont nombreux et on peut les diviser en :

I.5.1. Tanins

Les tanins sont des substances composées d'un mélange de glucosides et d'acide gallique. Bien que présents en petite quantité, c'est des substances phénoliques très complexes dans de nombreuses plantes. De plus, ils possèdent des propriétés astringentes, cytostatiques bactéricides, c'est pourquoi ils sont utilisés dans des formulations topiques pour guérir des blessures, des hémorroïdes, des engelures, et brûlures (Ozturk, 2018).

I.5.2. Flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne un groupe très large de composés naturels appartenant aux polyphénols, qui leur confèrent des propriétés thérapeutiques et cardioprotectrices grâce à leur activité antioxydante et anti-âge. Ils ont également des propriétés antibactériennes et anticancéreuses. Tous les flavonoïdes ont le même squelette à 15 carbones (Figure 01) constitué de deux motifs aromatiques, anneaux C6 (A et B) reliés par une chaîne C3 (Salem, 2009).

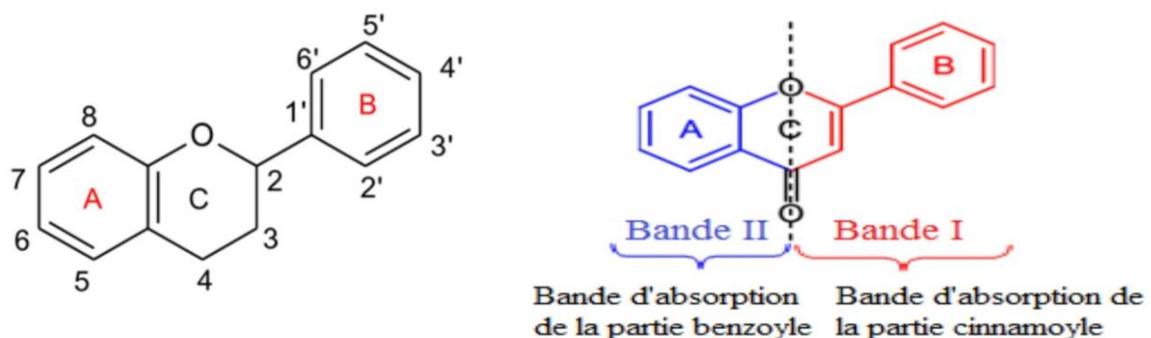


Figure 01 : La base structurelle des flavonoïdes (khan et al., 2014).

I.5.3. Huiles essentielles

Selon la définition standard AFNOR NFT 75-006, les huiles essentielles sont un produit naturel obtenu à partir de matières premières végétales par distillation à la vapeur ou distillation d'hydrogène. Elles sont ensuite séparées physiquement de la phase aqueuse. Elles présenteraient des propriétés antioxydants et antibactériennes ce qui permet leur utilisation

dans l'industrie alimentaire surtout pour la conservation des aliments (AFNOR, 1986 ; Bouhdid et *al.*, 2006).

I.5.4. Saponines

Ils sont les principaux ingrédients de nombreux médicaments à base de plantes existants sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes. Ils ont une activité endocrinienne hormonale, éliminent généralement le mucus et facilite la prise de nourriture (Ozturk, 2018).

I.5.5. Phénols

Les phénols sont constitués de plusieurs groupements phénoliques (Figure 02). Ils présentent des structures diverses. On prend comme exemple l'acide salicylique qui est constitué d'un groupement phénol et à partir duquel la célèbre aspirine a été élaborée. Ils sont utilisés pour désinfecter les plaies (Hansw, 2007 ; Nsemi, 2010).

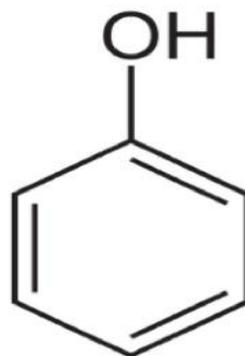


Figure 02 : La base structurelle des phénols (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

I.5.6. Alcaloïdes

Ce sont des matériaux à base d'azote ; ils sont constitués d'acides aminés, ont des structures complexes et ont des activités pharmacologiques importantes. Ils existent à l'état de sels et sont biosynthétisés. Ils possèdent également d'importantes propriétés anti-infectieuses (Bruneton, 1993 ; Kunkele et Lobmeyer, 2007).

I.5.7. Mucilages

Ce sont le produit de la polymérisation de nombreux sucres, dont certains sont modifiés (par exemple, acide uronique hétéro polysaccharidique). Ils ont la propriété de se gonfler d'eau. Ils sont donc utilisés comme laxatifs mécaniques et adoucisseur de gorge (**Grunwald et Janick, 2006**).

I.6. Les Activités biologique des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées dans des nombreuses activités biologiques telles que :

I.6.1. L'activité antimicrobienne

Cette activité correspond à l'activité des molécules ou composés présents à très faible concentration dans les plantes et qui inhibent le développement des bactéries ou les tuent. Par exemple, l'acide tannique inhibe la croissance des bactéries alimentaires et a un effet bactéricide sur diverses autres souches bactériennes (**Djahra et al., 2013 ; Gharbi et al., 2019**).

I.6.2. l'activité anticancéreuse

Les substances polyphénoliques peuvent activer les mécanismes naturels de protection contre le cancer comme l'isoxanthohumol. En effet, cette substance a la capacité à piéger et à bloquer au début de la phase de la maladie, la carcinogenèse et à métaboliser les mutagènes au niveau des tissus cibles (**Bailly, 2020**).

I.6.3. l'activité antiallergique

Les effets antiallergiques des plantes se fait par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPc phosphodiesterase et la Ca⁺² ATPase (**Mwakalukwa et al., 2019**).

I.6.4. L'activité antivirale

Elle est basée sur la liaison des molécules de tanins avec les protéines virales ou les membranes des cellules hôtes en inhibant ainsi l'adsorption et la pénétration du virus (Sentkowska *et al.*, 2016).

I.6.5. L'activité anti-inflammatoire

De nombreuses études ont montré que les plantes posséderaient des propriétés anti-inflammatoires en inhibant l'activité des enzymes responsables de l'inflammation. Elles pourraient également moduler l'adhésion des monocytes au cours de l'inflammation en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires. Les flavonoïdes inhibent l'histamine. Les flavones et flavonols glycosylés ou libres comme la quercétine, la myricétine auraient une activité inhibitrice de la cyclooxygénase COX (Batista *et al.*, 2015 ; Liu *et al.*, 2020).

Les plantes médicinales pourraient avoir plusieurs autres activités biologiques comme : antioxydantes, antifongiques, antileucémiques, cardioprotectrices, neuroprotectrices, antiasthmatiques, antiseptiques, protection cérébrovasculaire, hypocholestérolémiantes, hépatoprotectrices ...etc (Mayer *et al.*, 2005).

II. *Rubus fruticosus*

II.1. Généralités

Le nom *Rubus fruticosus* vient du latin *ruber* ; le rouge désigne la couleur avant que le fruit ne soit complètement mûr. *Frutex* signifie branche ou jeune arbre. Plusieurs noms vernaculaires sont attribués à cette plante : **Nom arabe** (عليق), **Nom français** (Ronce commune, Ronce des bois, Ronce des haies, Ronce européenne, Mures sauvages), **Nom Anglais** : Blackberry et **Nom Kabyle** (Tizwal) (Lim, 2012).

Rubus fruticosus L est un genre de plante ligneuse, de la famille des Rosacées. Elle compte environ 120 genres et 3 000 espèces. C'est une plante spontanée qui pousse sur les terrains en friche le long des haies, des clairières dans les bois, les bords de chemin, lisières et lorsqu'il y'a déforestation (Rameau et al., 2003 ; Couplan, 2012 ; Lim, 2012).

Cette plante a une particularité appelée "reproduction asexuée", c'est-à-dire qu'elle est capable de proliférer sans fécondation, ce qui conduit à la formation de buissons épineux

II.2. Répartition géographique

Les espèces de *Rubus fruticosus* se trouvent entre les parallèles 30° et 65° dans l'hémisphère nord et 28° et 40° dans l'hémisphère sud. Elles couvrent l'Europe, l'Afrique (Atlas), Afrique australe, Australie du Sud-Est, Nouvelle-Zélande, États-Unis et Chili. La ronce est également présente plus près de l'Equateur, mais à des altitudes plus élevées (on en trouve jusqu'à plus de 2 000 m d'altitude) (Becker et al, 1982).

II.3. Taxonomie

D'après la classification *Rubus fruticosus* appartient aux dicotylédones. Cette plante est classée de la manière suivante :

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta

Sous embranchement : Magnoliophytina

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Rosidae

Ordre : Rosales

Famille : Rosaceae

Genre : *Rubus*

Espèce : *Rubus fruticosus* (Zia-Ul-Haq et al, 2014).

II.4.Description botanique

Rubus fruticosus est constitué de **(Figure 03)** :

II.4.1. La tige

Cette espèce se trouve sous forme d'arbustes fructifères ou sous-arbrisseaux sarmenteux très variables, généralement rampants à rameaux épineux, polymorphes et retombants d'une longueur moyenne de 03 mètres appelés turions, couverts d'épines très dures droites ou crochues. Ces derniers donnent des tiges bisannuelles lignifiées dressées ou retombantes de 2-3 cm de diamètre à la base. Le pétiole est glabre ou légèrement poilu et éventuellement épineux (Wehrlen, 1985).

II.4.2. Les racines

Elles sont robustes, ramifiées, rampantes sous terre à une profondeur maximale de 1,5 m, selon le type de sol et de la canopée ligneuse et poussant verticalement. Les racines secondaires poussent horizontalement à partir de la couronne (Alioute, 2014).

II.4.3. Les feuilles

Les feuilles sont alternes et caduques, mais elles peuvent persister sur les turions. Les supérieures sont vertes et glabres ou légèrement poilues. Elles sont Composées palmées de 3 à 5(7) folioles ovales, denticulées et acuminées avec des folioles latérales. Elles ont des épines sur les pétioles et des stipules linéaires moins de 1 mm de large (Rameau et al., 1993).

II.4.4. Les Fleurs

Les fleurs sont sépales tomenteux, réfléchis. Pétales d'un rose vif, suborbiculaires, chiffonnées. Etamines égalant ou dépassant peu les styles roses (Alioute, 2014).

II.4.5. Les fruits

Les fruits de cette plante ressemblent aux fruits du mûrier noir (*Morus nigra*). Ils sont très rares dans le règne végétal mais communs à tout le genre *Rubus* (comme la framboise *Rubus idaeus*) (Reille, 2016).

Ils mesurent 0,5 à 3 cm de diamètre. Ils sont rouges, devenant bleu-noires à maturité. Ce sont des fruits composés récoltés à partir de carpelles modifiés en drupes, qui restent attachées aux réceptacles coniques dont une partie est emportée lors de la cueillette, ce qui les distingue du framboisier (Rameau et al, 1993).

II.4.6. Les graines

Elles sont enfoncées profondément et irrégulièrement, ovales, de couleur Brun clair à brun foncé de 2,6 à 3,7 mm de long et 1,6 à 2,5 mm de large (Alioute, 2014).



Figure 03: *Rubus fruticosus* L.(Lim,2012).

II.5.Composition chimique

Le contenu de la composition en polyphénols, dans le genre *Rubus*, sont déterminés par plusieurs facteurs : Génétique, Environnement, Méthode de culture, Climat, Période de cueillette, Temps et condition de stockage (Samuel-peterson, 2013).

Rubus fruticosus contient de nombreux composés phytochimiques, dont les polyphénols qui regroupent plusieurs familles de principes actifs telles que les flavonoïdes, tanins et anthocyanes. Cette plante contient également des principes actifs et d'autres

molécules tels que : les alcaloïdes, saponines, glycosides, terpènes, stérols, glucides de l'acide salicylique, acide ellagique acide ascorbique, acides organiques, et les huiles volatiles et fibres solubles et insolubles (Sellappan et Akoh, 2002 ; Wada, 2002 ; Aduragbenro et al., 2009).

Tableau 01 : Composition chimique de la partie aérienne de la ronce (Panizzi et al., 2001 ; Sisti et al., 2008 ; Martini et al., 2009 ; Chabane et al., 2014).

Composition chimique de la partie aérienne
Saponine
Composés phénoliques : Tanins hydrosoluble (ellegitanins), Tannins condensé (proanthocyanes), Flavonoles : rutin, acide ellagique, kaempferol, anthocyanine, quercétine ,acide coumarique, acide gallique
Acide caféique
Acide fellurique

Tableau 02 : Composition chimique des fruits de la ronce (Hagar et al., 2008 ; Sariburum et al., 2010 ; Kylli, 2011).

Composition chimique des fruits
Fibres
Vitamines : C, K
Minéraux
Composés phénoliques : Flavonoles, rutin, acide ellagique, kaempferol, flavan-3ols, tanins condensés (proanthocyanes), tanins hydrosolubles (ellagitanins), anthocyanine quercétine, cyanidines

II.6. Usage thérapeutique et traditionnel

La ronce est une plante médicinale très appréciée pour son efficacité à traiter certaines maladies. Cette plante est principalement composée de tanins, avec des propriétés astringentes et anti-diarrhéique. Le gargarisme par la décoction de la ronce est utilisé pour le traitement des maux de gorge, des inflammations buccales comme les ulcères de la bouche (les aphtes), la gingivite et la pharyngite. Les feuilles de la ronce sont potentiellement antibactériennes et antifongiques (traitement des candidoses). Elles sont utilisées pour soigner les plaies et les blessures extérieures et utilisées pour guérir du psoriasis et des squameuses conditions de la peau ainsi que l'anémie. Une décoction de feuilles peut être utilisée comme collyre pour les yeux. Les bourgeons sont utilisés pour traiter la bronchite et aider à soulager les problèmes d'insuffisance respiratoire. La ronce est dotée aussi des propriétés carminatives, diurétique, anti-hémorroïdaire, antidiabétique et anticacereuse (Fournier, 2010 ; Zia-Ul-Haq et al., 2014).

II.7. Propriétés biologiques

La plante *Rubus fruticosus* est largement utilisée en phytothérapie, notamment pour ses propriétés biologiques. L'extrait aqueux de cette plante a des propriétés anti-inflammatoires *in vitro* supérieur à l'aspirine, en inhibant la hyaluronidase (Marquina et al., 2002).

La Cyanidin-3-O-glucoside isolée de *Rubus fruticosus* supprime la production du NO en inhibant l'activation du NF- κ B ou MAP kinase. Elle a aussi forte activité antioxydante et anticancéreuse. Elle inhibe la transformation tumorale en métastases et induit l'apoptose dans les cellules tumorales HL-60 (Ding et al., 2006).

En outre, *Rubus fruticosus* a montré un effet hypoglycémiant chez la souris dans le modèle de diabète induit par la streptozotocine et l'alloxane. Cet effet est associé à l'inhibition de l' α glucosidase intestinale et l' α amylase pancréatique (Zia-Ul-Haq et al., 2014).

Chapitre N°2

Bactériologie

1. Définition

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés comme procaryotes car elles n'ont pas de membrane nucléaire. Cette propriété les distingue des autres organismes unicellulaires faisant partie des eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles ont généralement moins de 1 μm de diamètre. Elles peuvent être visualisées à l'état frais ou après coloration au microscope optique. Leur forme peut être sphérique (Cocci), ou bâtonnet (bacilles), incurvée (vibriosis) ou en spirale (spirochètes). Leurs détails structurels ne peuvent être vus qu'au microscope électronique (Nauciel et Vildé, 2005).

2. Différents types de bactéries

Il existe différents types de bactéries mais dans ce chapitre nous allons aborder les bactéries utilisées dans la partie expérimentale.

2.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, en abrégée *E. coli*, est une bactérie intestinale de famille des Enterobacteriaceae, cette famille regroupe des bacilles droits à bout arrondi, Gram négatif, mesurant de 0.3 à 1.0 μm de diamètre sur 1.0 à 6.0 μm de long, non sporulés, aérobies et anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase (Eckburg et al., 2005 ; Laarem et al., 2017).

2.1.1. Classification :

- **Domaine** : Bacteria
- **Phylum** : Proteobacteria
- **Classe** : Gammaproteobacteria
- **Ordre** : Enterobacteriales
- **Famille** : Enterobacteriaceae
- **Genre** : *Escherichia*
- **Espèce** : *Escherichia coli* (INPN, 2003).

2.1.2. Habitat

E. coli ou colibacille est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. C'est généralement une bactérie commensale. Elle peut devenir virulente lorsque les défenses de

l'hôte sont compromises ou que des facteurs de virulences spécifiques sont acquis (**Nauciel et Vildé, 2005**).

2.1.3. Transmission

L'infection humaine se produit principalement par la consommation d'aliments contaminés tels que la viande hachée crue ou insuffisamment cuite, le lait cru, les légumes crus et la contamination par les germes (**OMS, 2018**).

2.1.4. Pouvoir pathogène

- **Infection des voies urinaires**

Escherichia coli est la bactérie la plus fréquemment responsable des infections urinaires courantes, qu'elles soient de bas grade (cystite) ou de haut grade (pyélonéphrite). Les infections urinaires sont généralement ascendantes. Elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté de l'urètre. La grossesse augmente le risque de pyélonéphrite. Chez l'homme, l'infection est généralement secondaire à une obstruction des voies urinaires. Elle peut se compliquer de prostatite. *Escherichia coli* est également fréquemment impliquée dans les infections urinaires nosocomiales (**Nauciel et Vildé, 2005**).

- **Infections intestinales**

Escherichia coli peut provoquer une gastro-entérite avec une variété de traductions cliniques. Celles-ci comprennent la diarrhée banale, la diarrhée sanglante et la diarrhée semblable au choléra (**Nauciel et Vildé, 2005**).

Chez le nourrisson la diarrhée peut entraîner assez rapidement un état de déshydratation. Dans certains cas, en particulier chez les enfants, elle peut être suivie d'un syndrome hémolytique et urémique. La diarrhée à *E. coli* est plus fréquente dans les pays en développement et peuvent atteindre les voyageurs qui les visitent (« La turista ») (**Nauciel et Vildé, 2005**).

- **Infection néonatale**

Elle peut se traduire par une méningite ou une septicémie (**Fauchère et Loup, 2002**).

- **Diverses maladies infectieuses**

E. coli est responsable de nombreuses infections provenant du tractus gastro-intestinal ou de l'urine : suppuration locale ou septicémie qui peuvent être d'origine communautaire ou hospitalière (**Nauciel et Vildé, 2005**).

2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *Pseudomonas* est fait de bacilles mobiles, à Gram négatif, aérobies stricts, se développant facilement sur les milieux usuels,. *P.aeruginosa* se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies (Nauciel et Vildé, 2005).

2.2.2. Classification

- **Domaine** : Bacteria
- **Phylum** : Proteobacteria
- **Classe** : Gammaproteobacteria
- **Ordre** : Pseudomonasales
- **Famille** : Pseudomonaceae
- **Genre** : *Pseudomonas*
- **Espèce** : *Pseudomonas aeruginosa* (SFM, 2019).

2.2.2. Habitat

Cette bactérie est largement répandue dans les plans d'eau et les zones humides. Elle peut également coloniser les humains (Boudjemaa et Benguegua, 2010).

2.2.3. Transmission

Cela peut être dû à des facteurs environnementaux, soit directement, soit par l'intermédiaire d'équipements mal lavés ou rincés à l'eau du robinet. La contamination par *Pseudomonas aeruginosa* peut se faire également par le biais d'un sujet colonisé. La pression de sélection des antibiotiques en milieu hospitalier augmente probablement le risque de colonisation (Nauciel et Vildé, 2005).

2.2.4. Pouvoir pathogène :

Cette bactérie n'est pas pathogène chez les sujets normaux, mais elle peut provoquer des infections graves chez les sujets immunodéprimés. Elle peut causer: des infections des voies pulmonaires (patients immunodéprimés ou ventilés), des yeux (kératite ou endophtalmie), des voies urinaires, des bronches (en particulier chez les patients atteints de mucoviscidose), des infections osseuses et articulaires, des lésions cutanées (brûlures), des plaies traumatiques ou postopératoires, une otite externe (qui peut survenir de manière invasive chez les personnes âgées et chez les patients diabétiques), une septicémie (en

particulier chez les patients atteints de neutropénie) et une co-infection intracardiaque avec une méningite (toxicomanes) (Giraud *et al.*, 2010).

2.3. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie Gram-positif (colorée en violet par la coloration de Gram) qui a la forme de Cocci. Sur les milieux, ces organismes peuvent se développer dans jusqu'à 10 % de sel, de manière aérobie ou anaérobie (facultative) et à des températures comprises entre 18° C et 40 °C avec des colonies qui sont souvent dorées ou jaunes (*aureus* signifie doré ou jaune). (Taylor et Unakal, 2022).

2.3.1. Classification :

- **Domaine** : Bacteria
- **Phylum** : Firmicutes
- **Classe** : Bacilli
- **Ordre** : Bacillales
- **Famille** : Staphylococcaceae
- **Genre** : *Staphylococcus*
- **Espèce** : *Staphylococcus aureus* (Schleifer et Bell, 2010).

2.3.2. Habitat

Cette bactérie est répandue chez l'homme et de nombreuses espèces animales. Chez l'homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains, hébergeant la bactérie sur les muqueuses (principalement les fosses nasales) et les zones humides de la peau (périnée, aisselles) (Fauchère et Loup, 2002 ; Nauciel et Vildé, 2005).

2.3.3. Transmission

La transmission interhumaine se produit généralement par contact direct (manu portage). Il peut également se produire indirectement par les vêtements, la literie ou la nourriture. Une épidémie nosocomiale peut survenir (Nauciel et Vildé, 2005).

2.3.4. Pouvoir pathogène

- **Lésions suppurées**

Les plus courants sont cutanés et sous-cutanés : folliculite, furoncle, anthrax, impétigo bulleux, panaris, surinfection de plaies traumatiques ou postopératoires. *Staphylococcus*

aureus peut également provoquer une mammite chez les femmes qui allaitent. Cette bactérie tient également une place dominante dans les infections osseuses primitives (ostéomyélite) ou post-chirurgicales, ainsi que dans les arthrites suppurées et les crises pulmonaires, en particulier chez les nourrissons et les patients ventilés, pouvant être exacerbées par une pleurésie purulente (Nauciel et Vildé, 2005).

- **Septicémie et endocardite**

Les lésions purulentes peuvent être compliquées par une septicémie. Une forme spéciale est la staphylococcie maligne de la face. Elle débute par un furoncle des lèvres ou des narines compliqué d'une thrombophlébite purulente (Nauciel et Vildé, 2005).

Les toxicomanes utilisant la voie intraveineuse peuvent présenter des septicémies souvent accompagnées d'une endocardite du cœur droit. Dans le secteur hospitalier, les septicémies à *S. aureus* représentent une proportion importante des septicémies d'origine nosocomiale (Nauciel et Vildé, 2005).

- **Symptômes liés aux toxines**

Staphylococcus aureus peut provoquer une intoxication alimentaire s'il est cultivé pendant une courte période (plusieurs heures). Ces intoxications sont dues à l'ingestion d'aliments contaminés. L'infection à *Staphylococcus aureus* peut provoquer un syndrome connu sous le nom de syndrome de choc toxique staphylococcique, Ce syndrome est une combinaison de fièvre élevée, un rash scarlatiniforme, de diarrhée et d'hypotension, avec des signes de défaillance polyviscérale ; il provoque une certaine mortalité. Ceci peut être observé dans deux situations :

- Dans le premier cas, le syndrome survient pendant les menstruations chez les femmes qui utilisent des tampons hyper absorbants.
- Dans la seconde, il s'agit de sujets de l'un ou l'autre sexe présentant une suppuration localisée à *S. aureus* (Nauciel et Vildé, 2005).

3. La résistance bactérienne aux antibiotiques

3.1. Rappel bibliographique

La résistance aux antimicrobiens est aujourd'hui l'une des menaces les plus graves pour la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement, est un phénomène omniprésent

qui semble augmenter dans certains pays en développement en raison de la monotonie des antibiotiques disponibles. Dans les pays développés, le même phénomène s'explique par la pression sélective dans certains hôpitaux. Ceci est bien documenté avec une utilisation intensive en monothérapie (OMS, 2020).

Une souche est dite résistante si elle se développe en présence de concentrations plus élevées de l'antibiotique que d'autres souches apparentées phylo-génétiquement. L'étude de la résistance bactérienne a permis des découvertes majeures concernant l'organisation de l'information génétique bactérienne et la régulation de son expression. Aujourd'hui, il est essentiel pour les thérapeutes de connaître les antibiotiques pour leur meilleur usage (Boerlin et White, 2006 ; Patzer et al, 2008).

3.2. Les différents types de résistance

Il existe différents types de résistance bactérienne :

- **Résistance acquise**

Uniquement présente dans certaines souches de l'espèce. Cette résistance résulte d'un changement génétique par mutation ou acquisition de matériel génétique étranger (Faure, 2009).

- **Résistance naturelle ou résistance intrinsèque**

La résistance intrinsèque est un trait unique à une espèce bactérienne et partagé par toutes les souches de cette espèce. Cela peut être dû à la présence de gènes chromosomiques communs à toutes les bactéries de cette espèce (Faure, 2009).

- **Multi résistance**

C'est un terme très utilisé, même s'il ne correspond pas à une définition claire. La multi résistance fait référence à des bactéries rendues insensibles par l'accumulation d'une résistance naturelle ou acquise à quelques antibiotiques normalement thérapeutiques. Le terme est couramment utilisé pour les bactéries qui ont couramment un problème de ressources thérapeutiques (Fajardo et al., 2009).

3.3. Antibiogramme

Un antibiogramme est un type de test de laboratoire qui évalue la sensibilité des bactéries à un nombre spécifique d'antibiotiques. Les bactéries ont une résistance naturelle aux antibiotiques, mais peuvent acquérir une résistance supplémentaire au fil du temps. Il

n'est pas possible de prédire la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Les antibiogrammes permettent donc aux bactéries considérées comme pathogènes d'être testées contre plusieurs antibiotiques pour créer un profil de sensibilité (**Rubetti, 2021**).

3.4. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

C'est la plus faible concentration d'antibiotique ne présentant pas de croissance bactérienne visible à l'œil nu. C'est le paramètre le plus souvent utilisé car c'est avec lui que les corrélations cliniques ont été les mieux établies (**Fauchère, 1997**).

3.5. Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

C'est une concentration d'antibiotiques laissant moins de 0,01 % (0,1 % pour les Anglo-Saxons) de bactéries survivantes. La CMB a longtemps été utilisée pour distinguer les antibiotiques bactéricides (CMB proche de la CMI), des antibiotiques bactériostatiques (CMB très éloignée de la CMI). Actuellement, les propriétés bactéricides des antibiotiques découlent de leur mécanisme d'action (**Fauchère, 1997**).

Chapitre N°3
Tiboluim castaneum

1. Généralités sur les *Tenebrionidae*

La famille des Tenebrionidae compte **20000 espèces** dans le monde, l'origine de ce nom vient que la plupart ont des élytres de couleur sombre cependant il existe des espèces de couleur claire et variée (**Lerant, 2015**).

Selon (**Haines 1991**), le terme Tenebrionidae signifie ceux qui sont Tenebrio, un mot qui désigne plus tard littéralement les chercheurs d'endroits sombres (**Haines, 1991**).

C'est la famille la plus évoluée des coléoptères (**Dajoz, 2010**).

Le genre *Tribolium* compte deux espèces *T. castaneum* et *T. confusum*. Elles sont considérées comme étant des ravageurs secondaires des grains de céréales après leur infestation par des Calandriidae ou des Dermestidae (**Doumendji et al., 2003**).

2. *Tribolium castaneum*

C'est un insecte appartenant à la famille des *Ténébrionidae*. L'adulte mesure de 3 à 4mm, de couleur uniformément brun rougeâtre. Cet insecte est étroit, allongé, à bord parallèles à pronotum presque aussi large que les élytres et non rebordé antérieurement. C'est l'un des insectes des stocks les plus ubiquistes et les plus polyphages. Les adultes et les larves ne s'installent généralement pas dans le grain jusqu'à ce qu'une attaque par un ravageur majeur leur ouvre la porte. *T.castaneum* est considéré comme un ravageur strictement secondaire ; il provoque des dégâts importants sur les stocks de nombreux féculents, notamment les farines de céréales (**Camara, 2009 ; Bonneton, 2010**).

3. Classification

D'après **Chenni (2016)**, la classification de *T.castaneum* est comme suit :

Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda

Classe : Insecta

Ordre : Coleoptera

Genre : *Tribolium*

Espèce : *Tribolium castaneum*

4. Cycle de développement

4.1. Œufs

Les œufs (**Figure 06**) : sont blanchâtres ou incolores, mesurent environ 5 mm. Ils sont déposés en vrac sur les grains et sont difficiles à déceler (**Madene, 2014 ; Cheikh, 2019**).

4.2. Larves

Les larves sont vermiformes et ont des pattes à l'extrémité du dernier segment. Elles mesurent 6 mm de long, environ 8 fois plus longue que large, jaune pâle à maturité, avec plusieurs courtes crinières jaunes. La Capsule céphalique et le dos sont légèrement rougeâtres. Elles sont constituées d'un abdomen et une paire d'appendices courts, les "urogomphes" (**Godon et Willm, 1998**).

4.3. Nymphes

Selon **Christine (2001)**, la forme nymphe chez *T. castaneum* (**Figure 04 et Figure 06**) est cylindrique et de couleur blanchâtre virant vers le jaune. Elle mesure 5mm de long. Les nymphes femelles sont identifiées des nymphes mâles par leurs papilles génitales, qui sont situées juste devant les organes urogénitaux et sont beaucoup plus développées chez les femelles que chez les mâles.

4.4. Adultes

Les adultes de *T. castaneum* (**Figure 05 et Figure 06**) mesurent 3 à 4 mm de long et sont tous de couleur brun rougeâtre. Ils sont étroits, allongés, à bords parallèles. La partie supérieure de la tête et de la poitrine est recouverte de minuscules perforations. Les ailes et les élytres sont rayés sur toute leur longueur. Les antennes sont légèrement enflées et les yeux sont rouges. La poitrine est à bords généralement tranchants. Il y a deux épines à l'extrémité de l'abdomen (**Christine, 2001**).



Figure 04 : Nymphe de *Tribolium castaneum* (Kassimi, 2014).



Figure 05 : Adultes de *T.castaneum* (personnel, 2023).

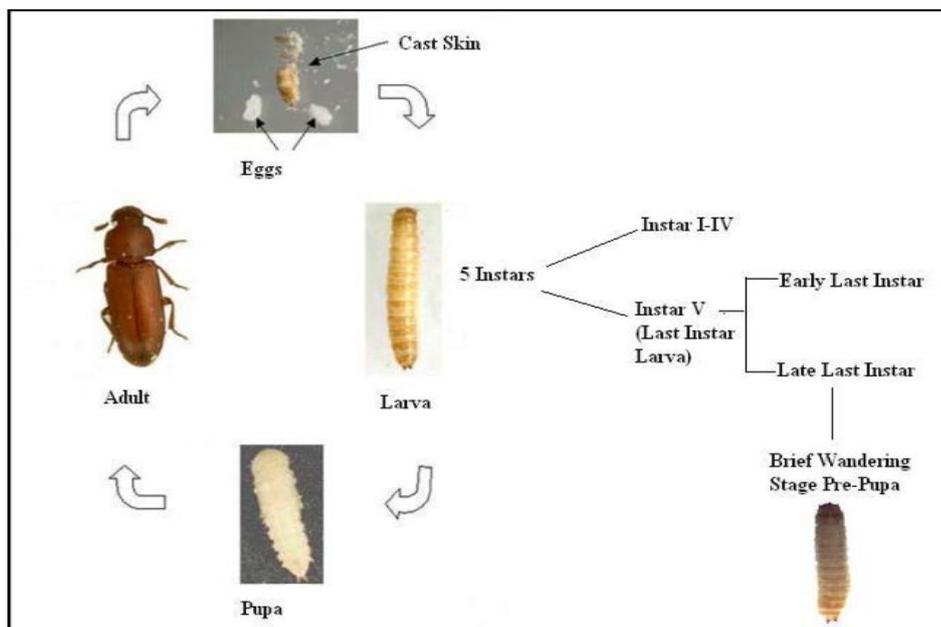


Figure 06 : Cycle de développement de *Tribolium castaneum* (Pranavi *al.*, 2016).

5. Facteurs de développement

Le développement biologique de *T. castaneum* est principalement affecté par la température et l'humidité, mais il existe d'autres facteurs influençant leur cycle évolutif tels que les champignons et les prédateurs. La croissance de cet insecte exige des températures minimales (22 - 22,5) °C et maximales (37,5 - 40) °C (Robinson ,2005).

6. Origine et répartition géographique

Tribolium castaneum se trouve dans toutes les parties du monde. Il existe là où les céréales stockées existent sous forme de grains ou de farine. Il est très abondant dans les régions tropicales. Il est présent uniquement dans les stockages à température élevées. Hors des greniers, on rencontre cette espèce en Asie du Sud sous l'écorce des arbres. Il a été signalé à Hawaii dans des nids de Megachilc mais également en Afrique du Sud dans des glands (fruits de *Quercus sp.*) (Delobel et Trane, 1993 ; Christine, 2001).

7. Dommages commis par *T. Castaneum*

Le *T. castaneum* préfère les produits céréaliers moulus comme la farine. Les larves et les adultes de cet insecte préfèrent s'attaquer aux grains déjà endommagés par d'autres insectes. Ils escortent souvent les charançons et complètent les dégâts. Les *Triboliums* sont polyphagiens,

Ce sont des lithophages secondaires car les larves et les adultes se nourrissent surtout de brisures. Ils peuvent attaquer les grains endommagés et manger des champignons qui envahissent les plantes, et peuvent cannibaliser les œufs et les nymphes. Ils deviennent alors de couleur brune et auront une odeur désagréable, qui peut persister dans les produits transformés (**Christine, 2001 ; Campbell et Runnion, 2003**).

Souvent, l'infestation par les *Triboliums* favorise le développement de moisissures, qui contribuent à réduire considérablement la qualité et la valeur du grain (**Christine, 2001**).

Selon **Campbell et Hagstrum (2002)**, Son mouvement et sa dispersion dans la nature sont favorisés par divers facteurs tels que : la densité d'insectes, l'âge des insectes, la qualité nutritionnelle, l'héritabilité de la transmission (facteurs génétiques) et la réponse aux substances volatiles alimentaires et aux phéromones d'agrégation.

8. Moyens de lutte contre le *T. castaneum*

8.1. Lutte chimique

C'est l'utilisation de produits phytosanitaires pour lutter contre les ravageurs alimentaires. Les insecticides de synthèse sont plus ou moins efficaces mais peuvent engendrer en plus des problèmes de résistance aux insectes nuisibles, des effets nocifs sur l'environnement et la santé humaine (molécules d'insecticides se trouvant dans les céréales stockées) (**Camara, 2009**).

8.2. Lutte biologique

L'utilisation anarchique des pesticides a engendré depuis quelques années des effets néfastes considérables. Ce qui a incité les scientifiques à chercher des alternatives de lutte pour remplacer ces pesticides chimiques par des biopesticides végétaux biodégradables et respectueux de l'environnement tels que l'utilisation des huiles essentielles (**Madjdoub, 2013**).

8.3. Lutte génétique

Comme le *Tribolium* est capable de résister à toutes les classes d'insecticides, le contrôle de ce ravageur nécessite de nouvelles stratégies de lutte. Le séquençage du génome, a justement permis d'identifier des protéines susceptibles d'être ciblées par de nouveaux

insecticides, comme les canaux ioniques et les récepteurs nucléaires (**Richards et al.,2008; Bonneton,2010**).

8.4. Lutte physique

Elle concerne toutes les techniques mécano-thérapeutiques susceptibles de rendre le stock sain. En général, ces techniques ne sont pas efficaces contre les formes cachées des insectes. Elles sont recommandées pour pallier les problèmes liés aux différents traitements chimiques appliqués aux denrées stockées. Ainsi plusieurs techniques ont été expérimentées et ont eu des succès divers : le traitement par le froid et le chaud, le stockage étanche ou sous atmosphère contrôlée et les radiations ionisantes (**Benayad, 2013**).

Deuxième partie

Expérimentale

Chapitre N°1

Matériel et Méthodes

Notre partie expérimentale a été réalisée au niveau des laboratoires de microbiologie (laboratoire 04) et de biochimie (laboratoire 02) ainsi que de l'animalerie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université du 8 mai 1945 Guelma.

Notre travail a porté sur :

- La préparation de deux types d'extraits de *Rubus fruticosus* (aqueux et méthanoliques) à différentes doses.
- Identification de la composition en principes actifs de la poudre et des différents extraits préparés de la plante.
- Dosage des polyphénols dans les différents extraits préparés.
- Evaluation de l'activité antibactérienne et insecticide des différents extraits utilisés.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Nous avons utilisé dans notre étude les feuilles de *Rubus fruticosus* (Ronce).

- **Récolte de la plante :** les feuilles de la plante ont été collectées au mois de mars 2023, sur des arbustes d'apparence saine, au niveau de Boumahra Ahmed (Wilaya de Guelma).

La matière végétale, cueillie, a été séchée à l'air libre et à l'ombre jusqu'à stabilisation de son poids (7 jours).

1.2. Model expérimental

1.2.1. Les souches bactériennes testées

Dans notre étude, nous avons utilisé les espèces bactériennes suivantes : Deux souches à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et une autre à Gram positif : *Staphylococcus aureus*. Elles ont été fournies par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital Ibn Zohr -Guelma. **Le tableau 03** présente les différentes références des souches bactériennes testées.

Tableau 03 : Les références des souches bactériennes (Sutra et al., 1998 ; Delarras,2007).

Souche	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Référence	ATCC 27853	ATCC 25922	ATCC 25923

1.2.2. Insecte testé

Nous avons utilisé pour évaluer l'activité insecticide de la plante étudiée, des adultes de *Tribolium castaneum*. Ils sont obtenus à partir d'un élevage de masse sur une farine de blé gardée dans une étuve, réglée à une température d'environ 30°C et un milieu humide. De nouvelles quantités de farine sont infestées régulièrement pour maintenir la continuité de l'élevage.

1.3. Milieux de culture utilisés pour les bactéries testées

Suivant les techniques employées et les souches étudiées, les milieux de culture utilisés sont suivants : Mac conkey, King A, Chapman, Gélose Nutritif (G N), Bouillon Nutritif (B N), Gélose de Muller Hinton (M H), Bouillon Mueller Hinton (BMH).

1.4. Réactifs utilisés : (voir annexe 1)

2. Méthodes

2.1. Préparation du matériel végétal

2.1.1. Préparation de la poudre de plante

Les feuilles cueillies sont lavées et mises à sécher dans un endroit sec et bien aéré à l'ombre. Une fois sèches, s'est transformée en poudre. Elles sont ensuite collectées dans des récipients hermétiques à l'abri de la lumière pour éviter la dégradation de leurs principes actifs (Bougandoura et Bendimerd, 2013).

2.1.2. Préparation des extraits

-Extrait aqueux

100g de poudre des feuilles de la plante étudiée a été rajoutée à 1 L d'eau distillée. Le mélange a été porté à ébullition pendant 15 min. Après refroidissement, la filtration a été effectuée à l'aide d'un papier Whatman N 01. Le filtrat obtenu a ensuite été séché dans une étuve à 45°C. Enfin, la poudre obtenue ou le décocté aqueux a été conservé à l'abri de la lumière dans un flacon stérile et sec à 4°C (Aouinty *et al.*, 2006).

-Extrait méthanolique

2,5g de poudre des feuilles de la plante a été mise à macérer dans 25ml de méthanol absolu sous agitation magnétique pendant 30min. L'extrait obtenu a ensuite été stocké à 4°C durant 24 h puis filtré. Le solvant du filtrat a été par la suite évaporé à sec, sous pression réduite à 45°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R- 215) (Falleh *et al.*, 2008).

2.1.3. Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait obtenu et le poids initial de la plante utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = 100 m/m_0$$

R : le rendement en %.

m : la masse de l'extrait.

m₀ : la masse initiale de la plante (poudre des feuilles).

2.2 Tests préliminaires de la composition chimique

2.2.1 Au niveau de la poudre de plante

- Alcaloïdes

10g de la poudre de plante sont mélangés avec quelques millilitres d'HCL à 1 % dans un récipient. Après une demi-heure de macération, le mélange est filtré avec un papier filtre.

Au filtrat obtenu, on additionne quelques gouttes de réactif de Mayer (5g de KI + 1,358g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée).

L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes (**Dohou et al., 2003**).

- Flavonoïdes

À 10g de la poudre sèche, sont ajoutés 150 ml d'HCl à 1%, le mélange est laissé pendant une nuit, puis filtré. 10 ml du filtrat sont rendu basique par l'ajout du NH₄OH. Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune orangée (**Okmu, 2005**).

-Tanins

10g de la plante sèche sont extraits par une solution hydro- alcoolique de C₂H₅OH, puis le mélange est filtré. Le filtrat est additionné à une solution de FeCl₃. L'apparition d'une couleur verte confirme la présence des tanins (**Karumi et al., 2004**).

- Saponosides

Dans une fiole jaugée renfermant 80 ml d'eau distillé bouillante, sont introduites 2g de poudre. L'ébullition est maintenue de façon modérée pendant 30 min ; le mélange est ensuite filtré. Après refroidissement, le filtrat est agité verticalement. La formation de mousse indique la présence de Saponosides (**Karumi et al., 2004**).

-Stérols et les terpènes

5g de la poudre, sont dissoutes dans 210 ml d'éther de pétrole, le mélange est filtré puis évaporé. Le résidu résultant est solubilisé dans 0.5 ml d'acide acétique ensuite dans 0.5ml de CHCl₃. Puis on y ajoute 1 ml d'H₂SO₄ concentré. La formation d'un cercle marron ou violet indique la présence des stérols terpéniques (**Dohou et al., 2003**).

2.2.2. Au niveau des extraits

- Alcaloïdes

Il existe deux tests d'identification des Alcaloïdes. Ils sont réalisés par des réactions de précipitation soit avec le réactif de Mayer ou bien celui de Wagner. 1ml de l'extrait est divisé en deux volumes égaux. Un Volume est traité par 0.5ml de réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc avec le premier réactif ou bien brun avec le deuxième réactif révèle la présence des Alcaloïdes (**Haoulia, 2015**).

Les deux réactifs sont préparés comme suit :

- **Réactif de Mayer** : 5g de KI et 1.35g de Hgcl₂ sont solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.
- **Réactif de Wagner** : 2g de KI et 1.27g de I₂ dans 75ml d'eau distillé, le volume est ajusté à 100 ml.

-Flavonoïdes

Traiter 5 ml de l'extrait avec quelques gouttes d'HCL concentré. Ajouter une quantité de tournures de magnésium (laisser agir). Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration rouge ou rose (**Edeogal et al., 2005**).

- Tanins

Mélanger 1 ml de la solution à tester avec 2 ml d'H₂ O et ajouter 2 à 3 gouttes de Fecl₃ (2 %). La coloration verdâtre ou bleu - noir indique la présence des tanins (**Edeogal et al., 2005**).

- Saponosides

Introduite 10 ml de l'extrait dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau distillée. Agiter pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 mn de repos confirme la présence des Saponosides (**Karumi et al., 2004**).

-Mucilages

À 1 ml de la solution à analyser, on ajoute 5ml d'alcool absolu (éthanol à 95%). L'apparition de précipités floconneux montre la présence de mucilage (**Dohou et al., 2003**).

-Stérols et Triterpènes

Dans un bécher, introduire 5 ml de l'extrait à étudier, ajouter 5ml d'anhydride acétique, 5ml de chloroforme et 1ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré dans la paroi de bécher sans agiter. Laisser reposer 20 min. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant montre la présence de stérols et triterpènes (**Karumi et al., 2004**).

2.3. Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de Folin–Ciocalteu : une quantité de 200µl de l'extrait est mélangée avec 1ml du réactif de Folin–Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué) et 0,8ml de carbonate de sodium à 7,5% (Na₂

CO₃). L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 minutes et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par g de matière végétale sèche (**Singleton et al., 1965**).

2.4. Etude de l'activité antibactérienne

2.4.1. L'antibiogramme par la méthode de diffusion des disques

C'est une méthode analytique permettant la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. L'information qu'elle fournit, est capitale pour l'établissement ou la rectification d'une thérapie déjà prescrite.

Selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé, on préconise d'adopter la méthode des disques selon la NCCLS.

- **Choix des antibiotiques utilisés**

Selon la recommandation du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM), le choix des antibiotiques testés sur les différentes espèces bactériennes isolées, repose d'une part, sur l'identification du genre et son profil habituel vis-à-vis des antibiotiques et d'autre part sur le spectre d'activité de chaque antibiotique (**Burnichon et Texier, 2003**).

- **Mode opératoire**

- ✓ **Préparation de l'inoculum**

À partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 heures (en phase de croissance exponentielle) sur gélose nutritive, Prélever à l'aide d'une anse de platine, 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%, bien homogénéiser la suspension bactérienne. Son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Ferland, Ainsi l'étalon doit présenter une densité optique(DO) allant de 0.08 à 0.11 lue à 625 nm (Standardisation de l'antibiogramme selon l'OMS, 1999).

Ajuster l'inoculum, soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou de l'eau physiologique stérile, s'il est trop fort. La suspension bactérienne doit être trouble pour être appliquée à l'antibiogramme.

N.B : les bactéries ont été repiquées sur leur milieu de culture approprié [*Escherichia coli* (Mac conkey), *Staphylococcus aureus* (Chapman), *Pseudomonas aeruginosa* (King A), (gélose nutritive)].

✓ **Ensemencement**

L'ensemencement se fait par la méthode de **Kirby-Bauer (2004)**, par écouvillonnage selon les étapes suivantes :

- Plonger un écouvillon stérile dans une suspension bactérienne et laisser s'imbiber.
- Le sortir du tube en l'essorant doucement sur la paroi.
- Ensemencer la boîte de Muller-Hinton dont l'épaisseur de la gélose est de 4 mm, en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois de 60° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum.
- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 min.

✓ **Application des disques d'antibiotiques**

À l'aide d'une pince stérile, déposer sur la boîte de pétri en appuyant légèrement, les disques d'antibiotiques. Veiller à ne pas chauffer les disques par la pince flambée. Ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Un disque appliqué ne peut être déplacé. Les différents disques doivent être distants d'environ 30mm. Les boîtes sont ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 24heures.

NB : six différents types d'antibiotiques ont été utilisés dans l'antibiogramme (Voir Tableau 04).

Tableau 04 : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme (**Chanda, 2007**).

<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Chloramphénicol	Vancomycine	Tétracycline
Amoxicilline	Pénicilline-G	Chloramphénicol
Gentamicine	Gentamicine	Gentamicine

✓ Préparation des disques d'extraits

À l'aide d'une pince stérile, des disques de papier Whatman 3 de 6 mm de diamètre préalablement stérilisés (140 ° pendant 40 minutes à l'étuve), ont été imbibés par 20 µl d'extraits de plante à différentes concentrations (10mg/ml, 5mg/ml, 2.5 mg/ml) et ont été par la suite aseptiquement déposés sur la surface de milieu de culture.

• Lecture :

À l'aide d'une règle, des mesures des diamètres des zones d'inhibition autour des disques chargés d'extraits ont été réalisées. Les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité (Pouce et al., 2003) :

Souches résistantes (Diamètre < 7 mm).

Souches sensibles (8 mm < Diamètre <14 mm).

Souches très sensibles (15 mm < Diamètre <19 mm).

2.5. Détermination des paramètres antibactériens

2.5.1. Préparation de l'inoculum

L'inoculum bactérien a été préparé à partir de colonies de moins de 24 h en bouillon Mueller Hinton (BMH). Une colonie isolée de la culture bactérienne a été prélevée à l'aide d'une anse de platine et homogénéisée dans 10 ml du bouillon puis incubé pendant 3 à 5 h à 37 °C pour avoir une pré-culture. Un volume de 0,01 ml ou 0,1 ml ou 1 ml a été prélevé respectivement pour les *Pseudomonas*, *E. Coli* et les *Staphylocoques* et a été ajouté à 10ml de BMH stérile. Cette suspension bactérienne réalisée est évaluée à environ 10^6 cellules/ml et constitue la dilution 10^0 ou le l'inoculum pur (Toty et al., 2013).

2.5.2. Numération de l'inoculum

La numération de l'inoculum a été réalisée par une dilution au $10^{\text{ème}}$ à partir de l'inoculum pur. On a obtenu 4 dilutions à 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . Ces différentes dilutions ainsi que l'inoculum pur ont été ensemencés à l'aide d'une anse calibrée de 2 µl par stries de 5 cm de long sur une gélose Mueller Hinton puis incubés à 37 °C pendant 24 h. Cette préparation constitue la boîte A (Toty et al., 2013).

2.5.3. Préparation de la gamme de concentration des extraits végétaux

La gamme de concentration de l'extrait végétal a été préparée dans huit tubes à essais numérotés de 1 à 8 par la méthode de la double dilution selon une progression géométrique de raison 1/2.

- **Inoculation**

Dans une série de huit tubes à hémolyse numérotées de C1 à C8, on a introduit 1ml de l'inoculum pur. Ensuite, on a ajouté dans les tubes, 1ml d'extrait végétal selon la gamme de concentration préparée. Cette répartition d'extrait végétal a été faite de sorte que 1ml d'extrait végétal de 1.25 mg/ml soit transféré dans le tube C1, le tube C2 a reçu 1 ml de 2.5 mg/ml ainsi de suite jusqu'au tube C8 qui a reçu 1ml de la solution à 160 mg/ml. Le tube C9 a reçu à la place de l'extrait végétal, 1 ml de BMH stérile qui a servi de témoin de croissance. Du fait de la dilution volume/volume ainsi réalisée, la concentration dans les tubes a été réduite de moitié. Ces tubes ont été incubés à 37 °C pendant 24 h (Toty *et al.*, 2013).

- **Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**

La CMI est la plus faible concentration de la substance pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24 h. Sa détermination est réalisée par observation du trouble induit par la croissance des germes étudiés dans chaque tube. La CMI est la plus petite concentration pour laquelle il n'y aura pas de trouble observé à l'œil nu (Toty *et al.*, 2013).

- **Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)**

La CMB est la plus faible concentration de substance qui laisse au plus 0,01% de germes survivants. A l'aide d'une anse calibrée à 2 µl, les contenus des tubes dans lesquels aucun trouble n'a été observé ont été prélevés etensemencés sur une gélose Mueller-Hinton en commençant par le tube de la CMI. L'ensemencement a été fait par stries parallèles de 5 cm de long à la surface de la gélose (Boîte B). Après 24 h d'incubation à l'étuve à 37 °C, le nombre de colonies sur les stries a été comparé à celles de la boîte de numération de l'inoculum (Boîte A). Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de germes présents sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10⁻⁴ correspondra à la CMB (Toty *et al.*, 2013).

2.6. Etude de l'activité insecticide

2.6.1. Evaluation de l'activité bio-insecticide des extraits de *Rubus fruticosus* sur *T.castaneum*

Selon **Benazzeddine (2010)**, l'efficacité d'un produit est évaluée par la mortalité. Le nombre d'individu dénombré mort dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tués par ce toxique. Il existe, en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce produit, les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'Abbott :

Formule d'Abbott :

$$\text{Mortalité corrigée (\%)} = (\text{Mortalité dans le groupe traité} - \text{Mortalité dans le groupe témoin}) / (100 - \text{Mortalité dans le groupe témoin}) \times 100$$

2.6.2. Traitement par application topique sur *T. castaneum*

Les deux extraits utilisés ont été testés par application topique sur la partie abdominale (ventrale) des adultes de *T.castaneum* à différentes doses (**Hami et al., 2005**). L'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* est administré aux doses : 5, 10 et 20mg/ml (chaque quantité de l'extrait sec a été diluée dans un 1ml de l'eau distillée), et l'extrait méthanolique a été utilisé avec les doses suivantes : 0.625, 1.25 et 2.5mg/ml (chaque quantité de l'extrait sec a été diluée dans un 1ml de DMSO à 10%). Ces doses ont été choisies à partir de tests effectués au préalable. Les insectes sont mis dans des boites de pétri contenant chacune 10 individus. De chaque dose des deux extraits utilisés, 2µl ont été prélevés à l'aide d'une seringue d'insuline et ont été appliqués aux insectes (ce protocole a été répété 3 fois). Les témoins ne reçoivent aucun traitement de les deux extraits (aqueux et méthanolique).

Chapitre N°2 Résultats et discussion

1. Rendement de l'extraction aqueuse et méthanolique

100g et 50g de matériel végétal (poudre des feuilles de *Rubus fruticosus*) ont permis d'obtenir respectivement des résidus secs d'extrait aqueux et méthanoliques. Les résultats obtenus (**Tableau 05**) montrent que le rendement en résidus d'extrait aqueux est de 12,9% (12,9 g pour 100g de poudre de plante) et celui de l'extrait méthanolique est de 11,64% (5,82g pour 50 g de poudre de plante). Ces résultats montrent que le rendement en résidu d'extrait aqueux est légèrement supérieur à celui de l'extrait méthanolique.

En effet les rendements varient selon l'espèce végétale utilisée, le type de solvant utilisé et la méthode d'extraction (**Lee et al, 2003**). Le rendement en résidus d'extrait méthanolique trouvé par **Meziti (2018)** ne concorde pas avec le nôtre. En effet, pour la même plante, il a trouvé un rendement supérieur (**21,5% > 11,64%**).

Tableau 05 : Rendements des deux extraits.

	Extrait aqueux	Extrait méthanolique
Rendement (g)	12.90	5.82
Rendement %	12.9	11.64

2. Tests préliminaires de la composition chimique

Les tests phytochimiques réalisés sur la poudre et les deux extraits préparés (méthanolique et aqueux) à partir des feuilles de *Rubus fruticosus* (Ronce), ont permis de mettre en évidence la présence de certains groupes de métabolites secondaires et l'absence d'autres. Ces résultats sont représentés dans le **tableau 06** ci-dessous :

Tableau 06 : Les résultats du criblage phytochimique de la poudre et des différents extraits de Ronce.

Composés Chimiques	La poudre	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
Alcaloïdes	+	+	+
Flavonoïdes	+	-	+
Tanins	+	+	+
Saponosides	+	-	+
Stérols et triterpènes	+	+	-
Mucilages	/	-	+

(-) : Indique l'absence ; (+) : Indique la présence.

Les résultats du criblage phytochimique réalisé sur la poudre de Ronce ont révélé la présence des alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, saponosides et stérols et triterpènes.

Les résultats du criblage phytochimique réalisé sur les deux extraits (aqueux et méthanolique) de *Rubus fruticosus* ont révélé la présence des tanins et alcaloïdes. Les flavonoïdes, saponosides et mucilages n'ont été retrouvés qu'au niveau de l'extrait aqueux et enfin, les stérols et triterpènes ne sont présents qu'au niveau de l'extrait méthanolique.

Les résultats des tests phytochimiques de l'extrait aqueux sont en accord avec ceux de **Rajeswari et al (2010)** qui ont décelé tous les principes actifs sauf les tanins et saponosides.

3. Dosage des phénols totaux

La détermination des teneurs en phénols totaux dans les deux extraits de *Rubus fruticosus* a été réalisée en utilisant la méthode (Folin-Ciocalteu) pour chaque extrait. Les concentrations en phénols totaux ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique/g du matériel végétal sec (**mg EAG/g**). Les résultats représentés par le **tableau 07** montrent que selon l'équation de l'acide gallique (voir courbe d'étalonnage sur annexe 2) l'extrait aqueux a une teneur en phénols totaux (886 mg EAG/g) supérieure à celle de l'extrait méthanolique

(748.5 mg EAG /g). Nos résultats ne concordent pas avec ceux de **Meziti (2018)** qui a réalisé des études sur *Rubus fruticosus* et qui a trouvé une quantité inférieure de composés phénoliques (227.15 ± 46.35 mg EAG/g d'extrait) par rapport aux nôtres (886 mg EAG/g. pour l'extrait aqueux et 748.5 mg EAG /g pour l'extrait méthanolique). Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats, car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité de la comparaison entre les études. Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Différentes études, ont montré que les facteurs extrinsèques (facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur la teneur en composés phénoliques (**Cheurfa et Allem, 2016**).

Tableau 07 : Dosage des phénols totaux selon l'équation de l'acide gallique.

Nature de l'extrait	Concentration des phénols totaux mg EAG/g
Extrait aqueux	886
Extrait méthanolique	748.5

4. Etude de l'activité antibactérienne

4.1. Sensibilité d'*Escherichia coli* vis-à-vis des extraits et des antibiotiques

Les résultats de la sensibilité d'*E coli* ATCC 25922 vis-à-vis des extraits testés de la plante et des antibiotiques sont représentés par les **tableaux 08** et **09** ci-dessous.

Tableau 08 : Sensibilité d'*E. coli* vis-à-vis des extraits testés.

Les extraits	Les doses	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Extrait méthanolique	10mg/ml	Sensibles	8mm
	5mg/ml	Sensibles	10mm
	2.5mg/ml	Résistante	00mm
Extrait aqueux	10mg/ml	Sensibles	12 mm
	5mg/ml	Sensibles	8 mm
	2.5mg/ml	Sensibles	10 mm

Tableau 09 : Sensibilité d'*E. coli* vis-à-vis des antibiotiques.

Les antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
C30 : Chloramphénicol	très sensibles	29mm
AMX25 : Amoxicilline	très Sensibles	23mm
GEN10 : Gentamicine	très Sensibles	25mm
Eau distillée	Résistante	00mm
DMSO	Résistante	00mm

D'après nos résultats, en comparant aux témoins négatifs (eau et DMSO), *E. coli* semble être sensible aux deux extraits de la plante étudiée. Cependant, elle a été plus sensible à l'extrait aqueux que l'extrait méthanolique. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Welia et al (2020)**. En effet, concernant l'extrait aqueux, nous remarquons avec intérêt qu'elle a été sensible aux trois doses utilisées, avec un maximum de diamètre de la zone d'inhibition de 12mm pour la concentration la plus élevée de l'extrait (10mg/ml) suivit d'un diamètre de 10mm pour la concentration moyenne de l'extrait (5mg/ml) et enfin d'un diamètre de 8mm pour la concentration la plus faible de l'extrait (2,5mg /ml).

Concernant l'extrait méthanolique, *E.coli* n'a pas été sensible vis-à-vis de toutes les doses utilisées et spécialement vis-à-vis de la dose la plus faible de l'extrait (2,5mg /ml). Elle a été curieusement plus sensible à la dose moyenne de l'extrait méthanolique (5mg/ml) avec un diamètre de la zone d'inhibition de 10mm, que la dose la plus élevée de l'extrait (10mg/ml) avec un diamètre de la zone d'inhibition de 8mm.

Les résultats de l'antibiogramme montrent que cette souche a été plus sensible vis-à-vis des antibiotiques que vis-à-vis des extraits utilisés. En effet, elle a été très sensible vis-à-vis de tous les antibiotiques utilisés avec des diamètres de la zone d'inhibition qui sont respectivement de 29mm, 23 mm et 25 mm pour les antibiotiques suivants : Chloramphénicol, Amoxicilline et Gentamicine.

4.2. Sensibilité de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des extraits et des antibiotiques

Les résultats de la sensibilité de *S. aureus* ATCC 25923 vis-à-vis des différents extraits de la plante étudiée ainsi que des antibiotiques sont représentés dans les **tableaux 10** et **11**.

Tableau 10 : Sensibilité de *S. aureus* vis-à-vis des extraits testés.

Les extraits	Les doses	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Extrait méthanolique	10 mg/ml	Résistante	00 mm
	5 mg/ml	Résistante	00 mm
	2.5 mg/ml	Résistante	00 mm
Extrait aqueux	10 mg/ml	Résistante	00 mm
	5 mg/ml	Résistante	00 mm
	2.5 mg/ml	Résistante	00 mm

Tableau 11 : Sensibilité de *S. aureus* vis-à-vis des antibiotiques.

Les antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
VA30 : Vancomycine	très Sensibles	25mm
GEN10 : Gentamicine	très Sensibles	35mm
P10 : pénicilline-G	Sensibles	9mm
Eau distillée	Résistante	00mm
DMSO	Résistante	00mm

D'après nos résultats et en comparant aux zones d'inhibition des témoins négatifs (eau et DMSO) et positifs (antibiotiques), *S. aureus* semble n'avoir aucune sensibilité vis-à-vis des extraits aqueux et méthanoliques de la plante étudiée aux différentes doses utilisées. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Welia et al (2020)** mais ne concordent pas avec ceux de **Rajeswari et al (2010)** qui ont trouvé que l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* présenterait une zone d'inhibition maximale d'environ 8mm contre *S. aureus*.

Nous avons remarqué également que *S. aureus* ne manifestait de sensibilité que vis-à-vis des antibiotiques utilisés (Vancomycine, Gentamicine et Penicille-G) avec la zone d'inhibition la plus élevée (35mm) pour la Gentamicine suivit de la Vancomycine (25mm) et enfin de la pénicilline-G (9mm). Elle est donc très sensible aux deux antibiotique (Gentamicine et Vancomycine) et relativement moins sensible à la pénicillie-G.

4.3. Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des extraits et des antibiotiques

Les résultats de la sensibilité de *P. aeruginosa* ATCC 27853 vis-à-vis des différents extraits de la plante étudiée ainsi que des antibiotiques sont représentés par les **tableaux 12** et **13**.

Tableau 12 : Sensibilité de *P. aeruginosa* vis-à-vis des extraits testés.

Les extraits	Les doses	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Extrait méthanolique	10 mg/ml	Sensibles	11 mm
	5 mg/ml	Sensibles	10 mm
	2.5 mg/ml	Sensibles	8 mm
Extrait aqueux	10 mg/ml	Sensibles	10 mm
	5 mg/ml	Sensibles	9 mm
	2.5 mg/ml	Résistante	7 mm

Tableau 13 : Sensibilité de *P. aeruginosa* vis-à-vis des antibiotiques.

Les antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
TE10 : Tétracycline	Sensibles	10 mm
C30 : Chloramphénicol	Sensibles	9 mm
GEN10 : Gentamicine	très Sensibles	20 mm
Eau distillée	Résistante	00 mm
DMSO	Résistante	00 mm

Nos résultats concernant la sensibilité de *P. aeruginosa* vis-à-vis des différents extraits de la Ronce montre que par rapport aux témoins négatifs (eau et DMSO), cette bactérie manifeste une sensibilité vis-à-vis de toutes les doses des deux extraits utilisés (méthanoliques et aqueux). Cette sensibilité vis-à-vis des extraits est dose dépendante : plus la dose de l'extrait est élevée plus la sensibilité de la bactérie est élevée et donc la zone d'inhibition est élevée. En effet, par rapport à l'extrait méthanolique, *P. aeruginosa* semble être plus sensible à la dose 10mg/ml suivit de la dose moyenne de 5mg/ml et enfin de celle de 2,5mg/ml avec des diamètres de la zone d'inhibition qui sont respectivement de : 11mm, 10mm et 8mm.

En ce qui concerne, l'extrait aqueux de la plante, la bactérie semble également être plus sensible à la dose la plus élevée (10mg/ml) de l'extrait suivit de la dose moyenne (5mg/ml) et enfin de la dose la plus faible (2,5 mg/ml) avec des diamètres d'inhibition qui sont respectivement de : 10mm, 9mm et 7mm.

Nous remarquons également que cette bactérie est sensible vis-à-vis des trois antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme avec une sensibilité plus élevée pour la Gentamicine avec une zone d'inhibition de 20mm suivit de la Tétracycline avec une zone d'inhibition de 10mm et enfin du Chloramphénicol avec une zone d'inhibition de 9mm.

Selon ces résultats, nous constatons que toutes les doses de l'extrait méthanolique ont été légèrement plus efficaces (presque équivalente en efficacité) que celles de l'extrait aqueux contre *P. aeruginosa*. Nous notons également et avec intérêt que la dose la plus élevée de l'extrait méthanolique (10mg/ml) ainsi que la dose moyenne (5mg/ml) rivalisent avec l'antibiotique ayant donné le deuxième meilleur pouvoir inhibiteur vis-à-vis de la bactérie étudiée, qui est la Tétracycline, avec des diamètres de zones d'inhibition qui sont respectivement de 11mm et 10mm pour l'extrait et 10mm pour l'antibiotique. La dose moyenne de l'extrait méthanolique (5mg/ml) a été également légèrement plus efficace que le chloramphénicol avec des zones d'inhibition respectives de 10mm pour l'extrait et 9mm pour l'antibiotique.

En ce qui concerne l'extrait aqueux, les deux doses utilisées contre *P. aeruginosa* : la concentration la plus élevée (10mg/ml) et la moyenne (5mg/ml) inhibent la bactérie respectivement avec la même efficacité que la Tétracycline (10mm) et le chloramphénicol (9mm).

En conclusion (**Tableau 08, 09, 10, 11,12 et 13**) nous remarquons avec intérêt que les deux types d'extraits de *Rubus fruticosus* (extrait aqueux et extrait méthanolique) sont efficaces uniquement vis-à-vis des bactéries à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*). Nous constatons également que l'extrait aqueux a été plus efficace vis-à-vis d'*E. coli* et que l'extrait méthanolique a été plus efficace vis-à-vis de *P. aeruginosa*.

5. Détermination des paramètres antibactériens des différents extraits de la Ronce

5.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée par la méthode de dilution en milieu liquide. Les résultats sont représentés dans **le tableau 14** ci-dessous.

Tableau 14 : Concentrations minimale inhibitrice (CMI) des différents extraits vis-à-vis des souches bactériennes.

Les souches bactériennes	Les doses des différents extraits	
	Extrait aqueux	Extrait méthanolique
<i>E. coli</i>	5 mg/ml	10 mg/ml
<i>S. aureus</i>	40 mg/ml	40 mg/ml
<i>P. aeruginosa</i>	10mg/ml	5 mg/ml

Nos résultats sur la CMI montrent que pour *E. coli*, l'extrait aqueux possède une activité inhibitrice à une (CMI=5mg/l) inférieure à celle de l'extrait méthanolique (CMI=10mg/ml).

En ce qui concerne *S. aureus*, les deux CMI de l'extrait méthanolique et aqueux sont équivalentes et égales à 40mg/ml. Cela veut dire que les deux extraits ont une activité inhibitrice de *S. aureus* à la même dose (40mg/ml).

En ce qui concerne *P. aeruginosa*, la CMI de l'extrait méthanolique (5mg/ml) est inférieure à celle de l'extrait aqueux (10mg/ml) ce qui veut dire que l'extrait méthanolique possède une activité inhibitrice vis-à-vis de cette bactérie à une concentration plus faible que celle de l'extrait aqueux.

Pour inhiber les deux bactéries à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*), l'extrait aqueux doit avoir une concentration de 10mg/ml qui est équivalente à celle de l'extrait méthanolique (10mg/ml). L'inhibition en même temps des trois bactéries à Gram positif (*S. aureus*) et à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) nécessite une concentration plus élevée de l'extrait méthanolique et aqueux qui est de 40mg/ml.

5.2. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

Les résultats de la Concentration Minimale Bactéricide des différents extraits de la Ronce sont représentés dans le **tableau 15** ci-dessous.

Tableau 15 : Concentrations minimale bactéricide (CMB) des différents extraits vis-à-vis des souches bactériennes.

Les souches bactériennes	Les doses des différents extraits	
	Extrait aqueux	Extrait méthanolique
<i>E. coli</i>	40 mg/ml	80 mg/ml
<i>S. aureus</i>	40mg/ml	80 mg/ml
<i>P. aeruginosa</i>	80 mg/ml	80 mg/ml

D'après nos résultats nous remarquons que pour *E. coli*, la CMB de l'extrait aqueux est plus faible (40mg/ml) que celle de l'extrait méthanolique (80 mg/ml). Ce qui veut dire qu'à seulement 40mg/ml l'extrait aqueux a une activité bactéricide vis-à-vis de cette bactérie tandis que l'extrait méthanolique doit avoir le double de cette concentration pour avoir le même effet.

En ce qui concerne *S. aureus*, l'extrait aqueux semble avoir un effet bactéricide vis-à-vis de cette bactérie à seulement 40 mg/ml (CMB) alors que l'extrait méthanolique est bactéricide qu'au double de cette concentration (80mg/ml).

En ce qui concerne *P. aeruginosa*, les deux extraits (aqueux et méthanolique) ont un effet bactéricide vis-à-vis de cette bactérie à une dose équivalente de 80mg/ml.

Pour tuer seulement les bactéries à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) ou les trois types de bactéries à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) et à Gram positif (*S. aureus*), les deux extraits (aqueux et méthanolique) doivent avoir au minimum une concentration de 80mg/ml.

En récapitulatif (**selon les tableaux 14 et 15**) nous constatons que les concentrations minimales inhibitrices sont inférieures ou égales aux concentrations minimales bactéricides. En effet, les deux extraits aqueux et méthanoliques inhibent la croissance de toutes les bactéries utilisées (à Gram négatif : *E. coli* et *P. aeruginosa* et à Gram positif : *S. aureus*) à partir de 40mg/ml. Cependant, ces deux extraits sont bactéricides qu' à partir d'une concentration double de 80mg/ml.

L'inhibition de la croissance uniquement des bactéries à Gram négatif nécessite une concentration en extrait méthanolique et aqueux de 10mg/ml tandis que la rupture de la croissance bactérienne nécessite une concentration minimale de 80 mg/ml.

L'inhibition de la croissance de *S. aureus* (la seule bactérie à Gram positif) nécessite une concentration minimale en extrait méthanolique et aqueux de 40 mg/ml alors que la rupture de la croissance bactérienne nécessite une concentration minimale de 40mg/ml pour l'extrait aqueux et le double de la dose (80 mg/ml) pour l'extrait méthanolique (pour cette bactérie la CMI et la CMB de l'extrait aqueux sont équivalentes).

L'activité inhibitrice ou bactéricide d'une substance végétale dépend de plusieurs facteurs tels que le mode d'extraction et la concentration en principes actifs (**Wagner, 1993 ; Thangara, et al, 2000**). Aussi, faut-il rappeler que *Rubus fruticosus* contient des Alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, saponines, glycosides, terpènes, stérols et glucides (confirmé également par notre étude phytochimique) (**Aduragbenro, et al, 2009**). Ces composés sont connus pour leurs propriétés antibactériennes (**Scalbert, 1991**). Leur présence pourrait donc expliquer les activités antimicrobiennes observées.

6. Etude de l'activité insecticide

6.1. Evaluation de l'activité bio-insecticide des extraits de *Rubus fruticosus* sur *T.castaneum*

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité de deux types d'extraits de la plante étudiée et ce à partir de la mortalité enregistrée (mortalité observée et notée durant les 24h, 48h, 72h qui suivent le traitement) chez les individus cibles traités. Pour caractériser l'effet toxicologique des extraits utilisés sur *T.castaneum*, les pourcentages des mortalités observés sont corrigés par la formule d'**Abbott (1995)** qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de connaître l'effet toxique réelle du bio-insecticide par l'analyse des probités(1971). Les résultats des mortalités sont mentionnés dans les tableaux et les figures ci-dessous.

6.1.1. Effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* vis-à-vis des adultes de *Tribolium castaneum*

L'évaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* a été déterminée à partir du taux de mortalité enregistré aux différentes doses appliquées à l'insecte (5,10, 20mg/ml) pendant (24h, 48h, 72h). Les taux de mortalités observées sont mentionnés sur les tableaux (16, 18 et 20) ci-dessous.

Tableau 16 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 24h de traitement (M±S de 3 répétitions, n=10).

Répétitions	Témoin	5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml
R1 %	0	10	40	20
R2 %	0	10	10	40
R3 %	10	20	30	30
M±S %	3,33±5,77	13,33±5,77	26,66±15,27	30±10

Tableau 17 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 24h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).

Répétitions	5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml
R1 %	10	40	20
R2 %	10	10	40
R3 %	11,11	22,22	22,22
MC±S %	10,37±0,64	24,07±15,08	27,40±10,96

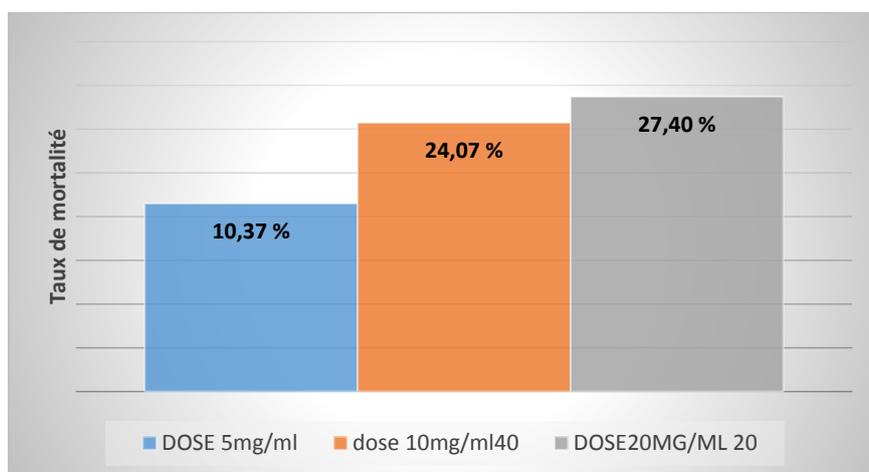


Figure 07 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 24h de traitement avec un taux de mortalité corrigée ($M \pm S$ de 3 répétitions, $n=10$).

Les résultats de la mortalité corrigée (**Tableau 17 et figure 07**) montrent que l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* a un effet toxique sur les adultes de *Tribolium castaneum* dans les 24h de traitement avec le taux de mortalité le plus élevé (27.40% $\pm 10,96$) pour la dose la plus concentrée de l'extrait (20mg/ml) suivit de la dose moyenne (10mg/ml) de l'extrait avec un taux de mortalité de 24.07% $\pm 15,08$ et enfin de la dose la moins concentrée (5mg/ml) avec un taux de mortalité de 10.37% $\pm 0,64$.

Tableau 18 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 48h de traitement ($M \pm S$ de 3 répétitions, $n=10$).

Répétitions	Témoin	5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml
R1 %	0	10	60	40
R2 %	0	10	10	70
R3 %	10	50	30	20
M\pmS %	3,33 \pm 5,77	23,33 \pm 23,09	33,33 \pm 25,16	43,33 \pm 25,16

Tableau 19 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 48h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).

Répétitions	5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml
R1 %	10	60	20
R2 %	10	10	70
R3 %	44,44	22,22	11,11
Mc±S %	21,48±19,88	30,74±26,06	33,70±31,74

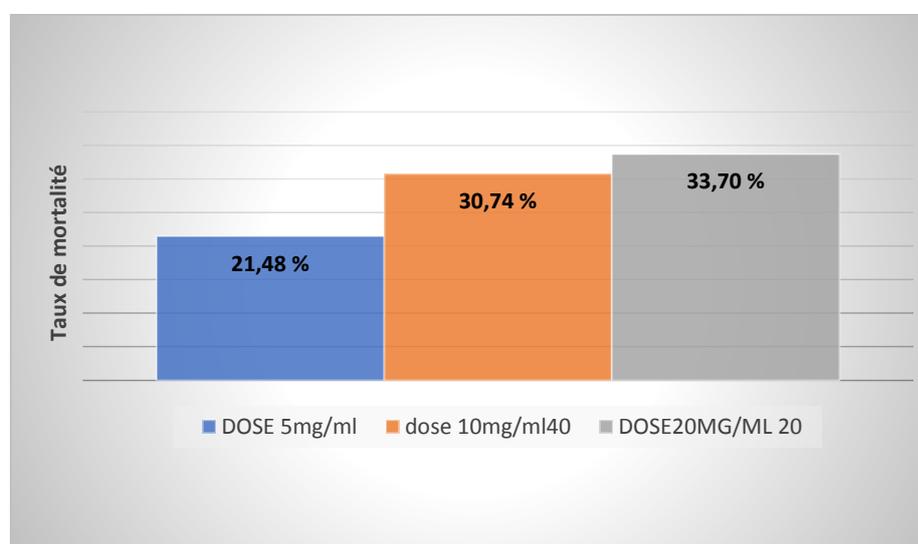


Figure 08 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 48h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).

À partir des résultats de la mortalité corrigée représentés par le **tableau 19** et la **figure 08**, nous remarquons avec intérêt qu'après 48h, l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* aurait un effet toxique dose dépendant vis-à-vis des adultes de *Tribolium castaneum*. En effet, le taux de mortalité le plus élevé a été enregistré pour la dose la plus concentrée de l'extrait (20mg/ml) suivit de la dose moyenne (10mg/ml) et enfin de la dose la plus faiblement concentrée (5mg/ml). Ces taux de mortalités sont respectivement de 33,70% ±31,74, 30,74% ±26,06 et enfin de 21,48% ±19,88.

Tableau 20 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 72h de traitement (M±S de 3 répétitions, n=10).

Répétition	Témoin	5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml
R1 %	10	40	80	90
R2 %	0	20	40	80
R3 %	0	60	50	90
M±S %	3,33±5,77	40±20	56,66±20,81	86,66±5,77

Tableau 21 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 72h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).

Répétitions	5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml
R1 %	33,33	77,77	88,88
R2 %	20	40	80
R3 %	30	50	90
Mc±S %	27,77±6,93	55,92±19,56	86,29±28,54

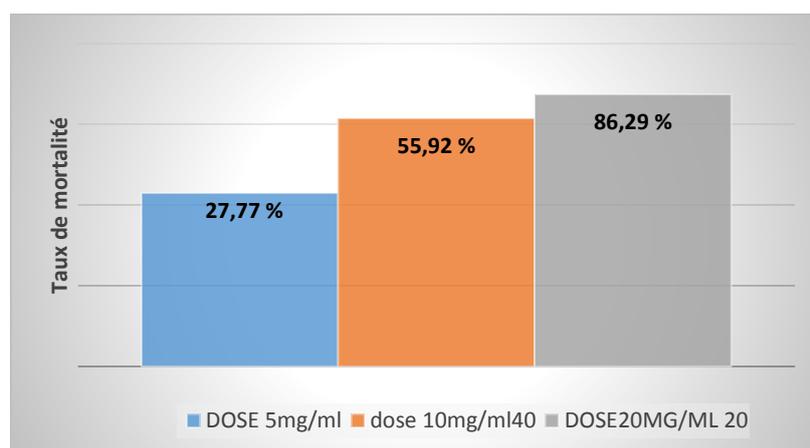


Figure 09 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 72h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).

Les résultats de la mortalité corrigée, représentés par le **tableau 21** ci-dessus et la **figure10**, montre qu'après 72h de traitement, l'extrait aqueux de *Rubus Fruticosus* aurait un effet dose dépendant et très toxique vis-à-vis des adultes de *Triboluim castaneum*.

En effet, nous remarquons avec intérêt que le taux de mortalité le plus élevé a été enregistré avec la dose la plus élevée de l'extrait (86.29% \pm 28,54 d'insectes morts pour la dose 20mg/ml) suivit de la dose moyenne (55.92% \pm 19,56 pour 10mg/ml) et enfin de la dose la plus faible (27.77% \pm 6,93 pour 5mg/ml).

Il est à noter que selon nos résultats précédents (**Tableau 17, Tableau 19, Tableau 21, Figure 07, Figure 08, et Figure 09**), la mortalité corrigée des insectes dépend à la fois de la dose utilisée et du temps d'exposition aux extraits. En effet la dose 20mg/ml de l'extrait semble être la plus efficace vis-à-vis de *T. castaneum* peu importe le temps d'exposition des insectes. Nous notons également et avec intérêt, que peu importe la dose utilisée, plus le temps d'exposition est long, plus le taux de mortalité des insectes est élevé. 72h constituent la période d'exposition la plus toxique vis-à-vis de l'insecte cible.

6.1.2. Effet toxique de l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* vis-à-vis des adultes de *Tribolum castaneum*

L'effet de l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* a été déterminé à partir de taux de mortalité enregistré. Cet extrait a été utilisé par application topique à différentes doses (2.5, 1.25, 0.625 mg/ml) sur les adultes de *Tribolum castaneum*. Les taux de mortalité observés sont mentionnés sur le **tableau 22** ci-dessous.

Tableau 22 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolum castaneum* après 24h de traitement (M \pm S de 3 répétitions, n=10).

Répétition	Témoin	0.625mg/ml	1.25mg/ml	2.5mg/ml
R1 %	10	30	80	90
R2 %	0	40	90	100
R3 %	0	60	70	100
M \pm S %	3,33 \pm 5,77	43,33 \pm 15,27	80 \pm 10	96.6 \pm 5,33

Tableau 23 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 24h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).

Répétition	0,625mg/ml	1,25mg/ml	2,5mg/ml
R1 %	22,22	77,77	88,88
R2 %	40	90	100
R3 %	60	70	100
M±S %	40,74±18,90	79.25±10,08	96,29±6,42

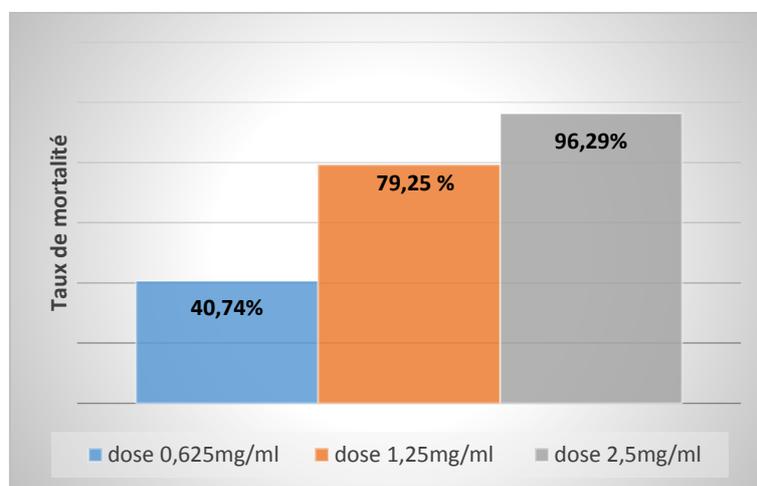


Figure 10 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 24h de traitement avec un taux de mortalité corrigée (M±S de 3 répétitions, n=10).

À partir des résultats de la mortalité corrigée mentionnées sur le **tableau 23** et la **figure 10**, nous constatons que le taux de mortalité des insectes adultes est élevé et augmente en fonction des doses utilisées. L'extrait méthanolique semble avoir un effet très toxique sur les adultes de *Tribolium castaneum* avec un taux de mortalité approchant les 100% (96,29% ±6,42) pour la dose la plus élevée de l'extrait (2,5mg/ml), suivit de 79.25% ±10,08 pour la dose moyenne (1.25mg/ml), et enfin un taux de mortalité de 40.74% ±18,90 pour la dose la plus faible (0.625mg/ml).

En raison de la mortalité très élevée, enregistrée 24h après administration de l'extrait méthanolique, il n'était pas nécessaire d'allonger la période d'exposition des insectes adultes, à 48h et 72h.

L'effet insecticide des différents extraits aqueux et méthanoliques de *Rubus fruticosus* n'a pas été étudié au paravent, c'est ce qui fait l'originalité de notre étude. On a obtenu un taux de mortalité de 86.29 ± 28.54 après 72h de traitement avec la plus forte dose de l'extrait aqueux (20mg/ml), et un taux de mortalité de 96.29 ± 6.42 juste après 24h d'exposition à la plus forte dose de l'extrait méthanolique (2.5mg/ml qui est <20mg/ml de l'extrait aqueux). Nous remarquons donc que l'extrait méthanolique montre une efficacité plus importante que l'extrait aqueux peu importe la durée de traitement. Nos résultats sont similaires à plusieurs autres études portant sur l'effet insecticide d'autres plantes vis-à-vis du même insecte *T. castaneum*. En effet, **Tripathi et al., (2002)** ont montré que l'armoise manifeste une action toxique par contact- fumigation et provoque un effet antiappétant à l'égard de *Tribolium castaneum*. L'étude de la toxicité des extraits d'*Euphorbia guyoniana*, sur les adultes du même insecte ont montré une toxicité particulière de cette plante vis-à-vis des imagos. Un pourcentage de mortalité de 100% a été rapporté chez les individus traités (**Kemassi et al., 2019**). Les travaux de **Bouenchada et Arab (2011)**, ont démontré que les poudres de *Melia azedarach* et de *Peganum haramala* dont la concentration est de 30%, manifestent une forte mortalité chez le même insecte, quel que soit la durée de traitement. **Jbilou et al., (2008)** ont montré que les extraits méthanoliques de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae), *Ajuga iva* (Labiatae), *Aristolochia baetica* (Aristolochiaceae) et *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceae) avaient des effets insecticides variés vis-à-vis de *T. castaneum*. *P. harmala* semble donner la plus forte activité insecticide sur les larves et les adultes de cet insecte.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Au terme de cette étude, nous avons constaté que l'extrait aqueux et méthanolique de la plante médicinale étudiée *Rubus fruticosus* contient des principes actifs potentiellement efficaces sur les bactéries et les insectes.

Le rendement en extrait aqueux était légèrement plus élevé que celui de l'extrait méthanolique (12,9% contre 11,64%).

Plusieurs tests phytochimiques ont été réalisés sur la poudre et les extraits utilisés de la plante étudiée. Ils ont révélé la présence au niveau de la poudre de plante, des alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, saponosides et stérols et terpènes (test de mucilages non réalisé que pour la poudre de plante). Tous ces principes actifs ont été retrouvés au niveau des deux extraits mis à part les stérols et terpènes pour l'extrait aqueux et les flavonoïdes, saponosides et mucilages pour l'extrait méthanolique.

Parmi ces principes actifs, la famille des polyphénols dont les flavonoïdes et tanins occupent une place importante de par leur efficacité vis-à-vis des bactéries et insectes ont été dosés au niveau des différents extraits. Les résultats ont révélé une présence quasi importante de ces composés : 886 mg EAG/g d'extrait aqueux et 748.5 mg EAG/g d'extrait méthanolique.

L'évaluation des activités antimicrobiennes des deux extraits testés à différentes doses (2,5, 5, 10 mg/ml) sur trois souches bactériennes potentiellement pathogènes : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 a montré que les deux extraits sont efficaces uniquement contre les bactéries à Gram négatif. Il a été constaté, selon les doses utilisées, que l'extrait aqueux a été plus efficace contre *E. coli* et l'extrait méthanolique a été légèrement plus efficace que l'extrait aqueux contre *P. aeruginosa*.

La CMI de l'extrait aqueux contre *E. coli* a été plus faible que celle de l'extrait méthanolique (5mg/ml contre 10mg/ml). Tandis que l'extrait méthanolique possède une CMI plus faible pour *P. aeruginosa* (5mg/ml contre 10mg/ml). La CMB de l'extrait aqueux contre *E.coli* est plus faible que celle de l'extrait méthanolique (40mg/ml contre 80mg/ml).

Toutefois, les CMB vis-à-vis de *P. aeruginosa*, des extraits méthanoliques et aqueux sont équivalentes (80mg/ml).

Les CMI de l'extrait aqueux et méthanolique contre *S. aureus* sont équivalentes (40mg/ml) tandis que les CMB vis-à-vis de la même bactérie sont différentes. La CMB de l'extrait méthanolique est le double de la CMB de l'extrait aqueux (80mg/ml contre 40mg/ml).

Nous pouvons conclure qu'aux doses utilisées pour évaluer l'effet antibactérien (disques imprégnés de 2.5mg/ml, 5mg/ml et 10mg/ml d'extraits) l'extrait aqueux était plus efficace sur *E. coli* et avait un effet inhibiteur sur sa croissance. L'extrait méthanolique quant à lui était plus efficace contre *P. aeruginosa* et a exercé un effet inhibiteur sur son développement. Les deux extraits n'avaient aucun effet sur *S. aureus* car les CMI et CMB dépassaient largement la plus grande dose utilisée en extraits qui est de 10mg/ml (méthode de diffusion sur disque).

L'évaluation de l'activité bioinsecticide des différentes doses des extraits aqueux et méthanoliques de *Rubus fruticosus* appliquées par voie topique sur la partie abdominale des adultes d'un insecte ravageur des denrées stockées (*T. castaneum*), a montré que l'extrait méthanolique semblait être plus toxique que l'extrait aqueux vis-à-vis de cet insecte avec une efficacité dose dépendant et un taux de mortalité élevé de $96,29\% \pm 6,42$ dès 24h de traitement avec une dose de 2,5mg/ml (l'extrait aqueux a enregistré un taux de mortalité maximum de $86,29 \pm 28,54\%$ après 72h avec une concentration plus élevée 20mg/ml).

Au bout de cette étude, on peut conclure que les deux extraits de *Rubus fruticosus* peuvent être une source prometteuse de nouvelles substances antibactériennes et insecticides. Afin d'améliorer cette étude nous pouvons :

- Elargir l'échantillonnage en utilisant d'autres bactéries et insectes.
- Faire une étude chimique détaillée des extraits de la plante (HPLC couplé à la Spectroscopie de masse).
- Utiliser d'autres doses de la plante.
- Faire une étude statistique.

Annexes

Annexe 1**1. Solution HCl à 1%**

-HCl.....	1ml
-Eau distillé.....	99ml

1 ml d'HCl sont ajoutés à 99 ml d'eau distillé

2. Solution FeCl₃ à 2%

- FeCl ₃	2g
-Eau distillé.....	98ml

2g FeCl₃ sont ajoutés à 98 ml d'eau distillé.

3. Solution DMSO à 10 %

- DMSO	10ml
- Eau distillé	90ml

10ml DMSO sont ajoutés à 90 ml d'eau distillé.

4. Solution carbonate de sodium à 7.5 %

-Carbonate de sodium.....	7.5g
- Eau distillé	100 ml

5. Gélose Mueller Hinton

Mettre en suspension 38.0 g de milieu déshydraté dans une 1 litre d'eau distillée ou minéralisée.

Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et i' y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.

Répartir en tubes ou en flacons.

Stérilisée à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes.

Refroidir et maintenir à 44_47°C.

Couler en boites de pétri stérile et laisser solidifier sur une surface froide.

Faire sécher les boîtes à l'étuve.

6. Gélose nutritive

Mettre en suspension 23 grammes dans 1 litre d'eau distillé.

Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute. Répartir en tubes ou flacons. Autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Couler en boîtes de pétri stériles et laisser sécher.

7. Bouillon nutritif

Ajouter 20g de poudre de bouillon nutritif dans 1L d'eau distillée.

Mélanger et dissoudre complètement.

Stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15 minutes.

8. Gélose Chapman :

Dissoudre 111 grammes de poudre dans un 1 litre d'eau distillée ou minéralisée.

Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement en agitant fréquemment puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Stériliser à autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Couler en boîtes de pétri stériles et laisser sécher.

9. Gélose de Macconkey :

Dissoudre 50 grammes de poudre dans un 1 litre d'eau distillée ou minéralisée.

Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement en agitant fréquemment puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Stériliser à autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Couler en boîtes de pétri stériles et laisser sécher.

10. Réactif et produit chimique

- HCL
- NH₄OH
- Hydro- alcoolique de C₂H₅OH
- FeCl₃
- Éther de pétrole
- Acide acétique
- CHCl₃
- H₂SO₄
- Réactif de Wagner
- Réactif de Mayer
- Tournures de magnésium
- Éthanol
- Méthanol
- Réactif de Folin–Ciocalteu
- Carbonate de sodium
- Acide gallique
- Eau physiologique stérile à 0.9%

11. Appareils :

- Bec bunsen
- étuve
- bain marie
- pH mètre
- vortex
- agitateur + plaque chauffante
- autoclave
- balance de précision
- haute
- réfrigérateur
- spectrophotomètre

12.Préparation des extraites

Extrait aqueux

- Dose 5mg/ml

Extrait aqueux.....5mg

Eau distillé.....1ml

- Dose 10mg/ml

Extrait aqueux.....10mg

Eau distillé.....1ml

- Dose 20mg/ml

Extrait aqueux.....20mg

Eau distillé.....1ml

Extrait méthalonique

- Dose 0.625

Extrait méthalonique.....0.625mg

DMSO 10%.....1ml

- Dose 1.25

Extrait méthalonique.....1.25mg

DMSO 10%.....1ml

- Dose 2.5

Extrait méthalonique.....2.5mg

DMSO 10%.....1ml



Figure : extraction méthanolique l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R-215)

Annexe 2

1. Criblage phytochimique

A- De poudre

- Flavonoïde



Avant



Après

- Les tanins



Avant

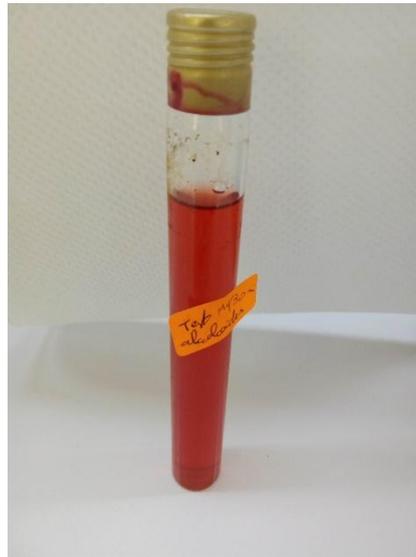


Après

- **Alcaloïde**



Avant



Après

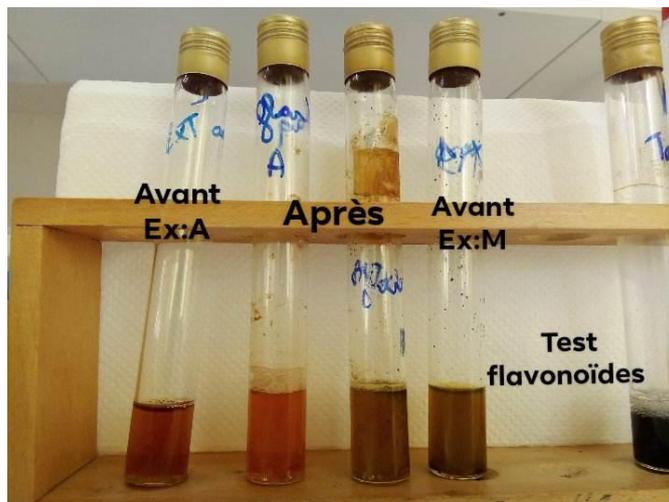
- **Test stérols et Triterpènes**



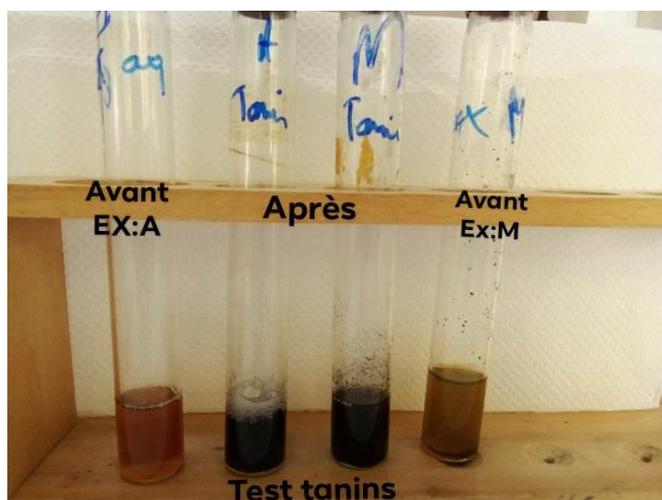
- **Saponosides**



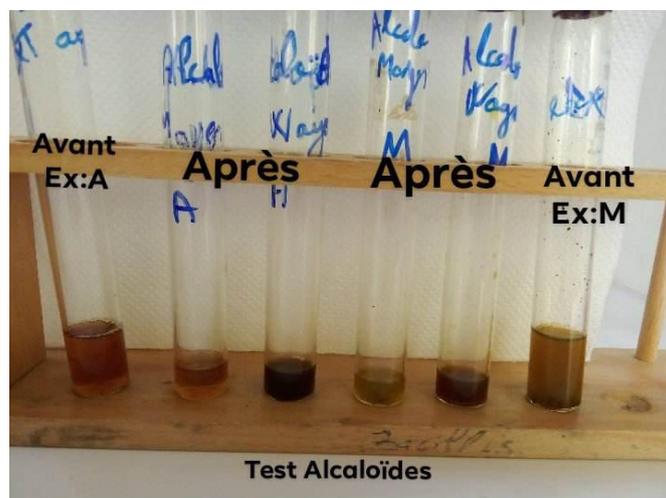
B- Résultat de criblage phytochimique sur les extraits



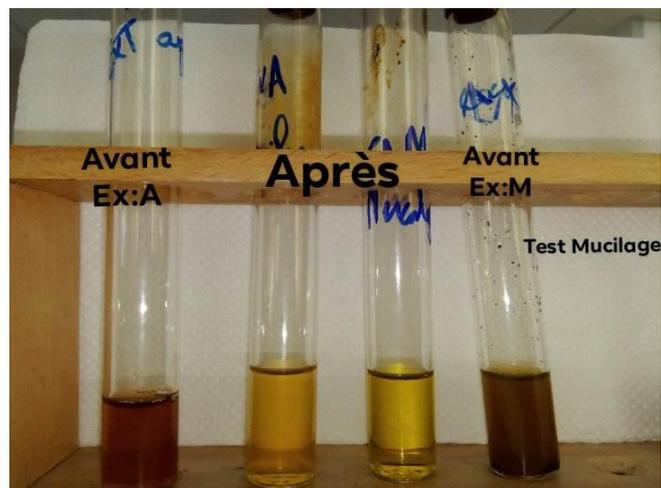
Test flavonoïdes



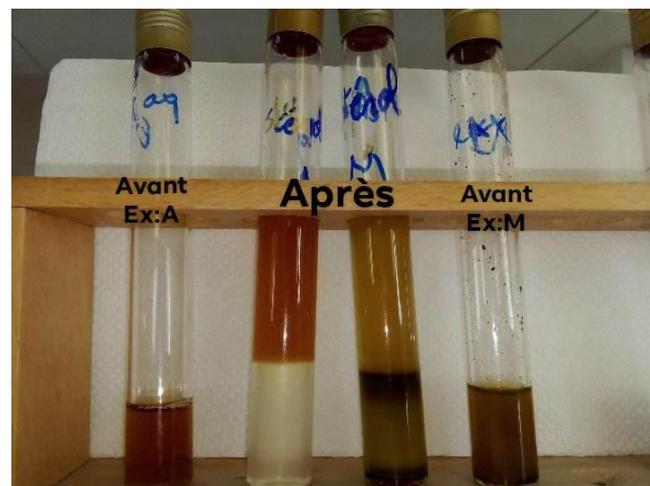
Test tanins



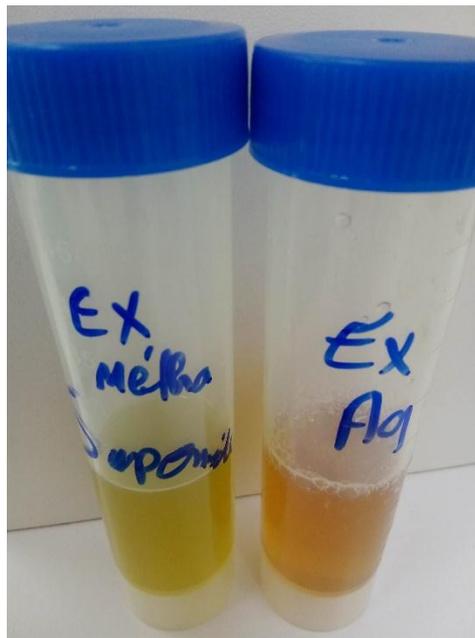
Test Alcaloïdes



Test Mucilage



Test stérols et Triterpènes



Test Saponosides

2. Les souches bactériennes utilisées



Figure : Les souches bactériennes utilisées (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*).

2. Dosage des phénols totaux

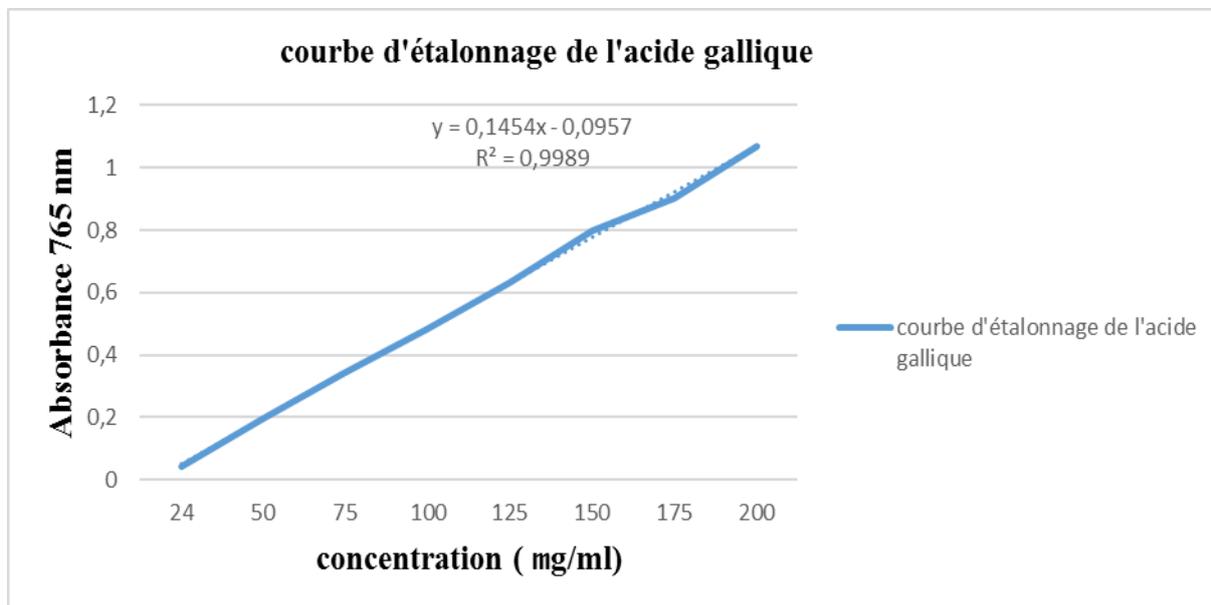


Figure : courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Annexe 3

1. Etude toxicologique sur *Tribolium castaneum*

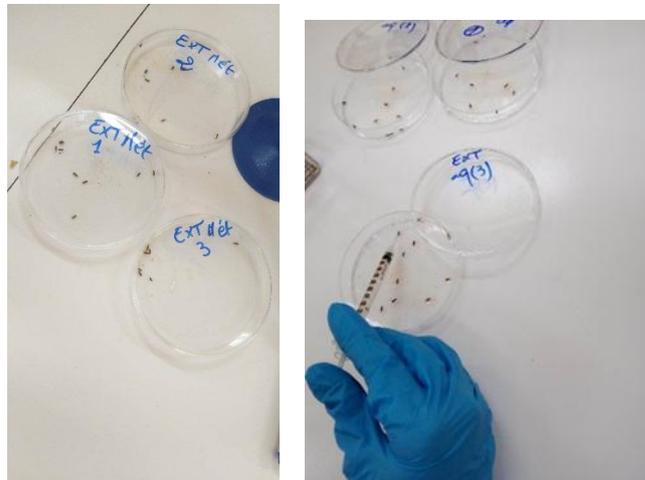


Figure : Traitement par application topique sur *T.castaneum*.



Figure : Elvage de *T. castaneum*

Références Bibliographiques

Références bibliographiques



Aduragbenro D.A., Yeside O.O., Adeolu A.A., Olanrewaju M.J., Ayotunde S.A., Olumayokun A.O., et al., 2009. La pression artérielle effet d'abaissement Adenanthaera extrait de semences pavonina sur des rats normotendus. Rec Nat Prod. 3, p :282-9.

Aliouat F., 2014. Etude des activités antioxydantes et antiprolifératives réalisées in vitro des extraits méthanoliques fruit et partie aérienne (feuilles et tige) d'une plante médicinale : *Rubus Ulmifolius Schott* (la ronce). Mémoire Master. Université de Blida I.

Aouinty B., Oufara S., Mellouki F et Mahari S., 2006. Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). volume 10, n 2.

Arab R., 2012. Effet insecticide des plantes *Melia azedarach* L. et *Peganum harmala* L. sur l'insecte des céréales stockées *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera, Tenebrionidae). Thèse de Magister, Sétif: Algérie

Association Françaises de Normalisation., 1986. Recueil de normes françaises, huiles essentielles, AFNOR Paris, AFNOR NFT 75-006.

B

Bailey C.J et Day C.C., 1989. plantes médicinales traditionnelles comme traitements pour le diabète. Diabetes Care. 12, p :553-64.

Bailly C., 2020. Molecular and cellular basis of the anticancer activity of the prenylated flavonoid icaritin in hepatocellular carcinoma. Chemico-Biological Interactions, p :109124.

Batista D., Falé P.L., Serralheiro M.L., Araújo M.E., Madeira P.J., Borges C and Rauter A.P., 2015. New In Vitro Studies on the Bioprofile of *Genista tenera*. Antihyperglycemic Extract. Natural products and bioprospecting, 5(6), p :277-285.

Becker M., Picard J.F et Timbal J., 1982. Larousse des arbres, des arbustes et des arbrisseaux de l'Europe Occidentale. Paris : Librairie Larousse, p : 272-275.

Benayad N., 2013. Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. Thèse de doctorat Chimie Organique Université Mohammed V, p : 47, 48.

Boerlin P and White D.G., 2006. Antimicrobial resistance and its epidemiology. In: **Giguère S., Prescott J., Baggot J., Walker R., and Dowling P.** Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, 4th Edition. Blackwell publishing : Ames, p : 27-43.

Bonneton F., 2010. Quand *Tribolium* complète la génétique de la drosophile. Médecine /Sciences, 26, p : 297–304.

Boudjemaa N.E et Ben guegua H., 2010. L'effet Antibactérien de *Nigella sativa*. Mémoire d'ingénieur. Université kasdi merbah-Ouargla. Algérie, p : 60.

Bouenchada et Arab., 2012. Effet insecticides des plantes *Melia azedarach* et de *Peganum haramala* sur *Tribolium castaneum* *Herbst.* *Agronomie.*

Bouhdid S., Edaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S and Abrîni J., 2006. Thymus essential oils : chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities, *Biochimie, Substances Naturelles et Environnement*, p : 324-327.

Bruneton J., 1987. Éléments de phytochimie et de pharmacognosie, Ed. Tec & Doc Lavoisier.

Bruneton J., 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, Edition Tee & DOC, Lavoisier, Paris, p : 266-466.

Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed, Techniques et documentations. Paris. 1085.

Bryskier A., 1999. Antibiotiques Agents Antibactériens et Antifongiques. Paris : Ellipses, p : 55.

Burnichon N et Texier A., 2003. L'antibiogramme. La détermination des sensibilités aux antibiotiques. Des bactériologies.

C

Cabo Gonzalez A.M et Lanly C., 1997. Ibn al-Baytār et ses apports à la botanique et à la pharmacologie dans le Kitāb al-Ġāmī. Médiévales 16, p : 23–39.

Camara A., 2009. Lutte contre *Sitophilus oryzae* L. (coleoptera: curculionidae) et *Tribolium castaneum* herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en basse-guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales. Thèse. Doctorat., Univ., Québec, Montréal, p : 2-27.

Campbell J.F and Hagstrum D.W., 2002. Patch exploitation by *Tribolium castaneum*: movement patterns, distribution, and oviposition. Journal of Stored Products Research, 38.

Chabane D and Saidi F., 2014. Antimicrobial activity of leaves of *Rubus ulmifoliusschott* against some pathogenic bacteria and fungi and evaluation of the acute toxicity. Int j pharm bio sci , vol : 5, n° 2, p :689-695.

Cheikh A., 2019. Caractérisation morphogénétique des population Ouest-africaines de *Tribolium castaneum* Herbst, ravageur des céréales stockées : différenciation en races hôtes et écotypes. Thèse de doctorat unique en biologie animale : université cheikh anta diop de dahar. (DAKAR), p : 28.

Chenni M., 2016. Étude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du *basilic ocimum basilicum* l'extraite par hydro-distillation. Thèse de doctorat en sciences. Université Oran. Ahmed ben Bella, p : 135.

Chourfa M and Allem R., 2016. Evaluation of antioxidant activity of different extracts of *Aloysia triphylla* leaves (L'Herit.) from Algeria in vitro. Phytothérapie. 14, p : 181-187.

Christine B., 2001. Contrôle de la qualité des céréales et protéagineux, guide pratique. 2ème Edition, p : 124-154.

Couplan F., 2012. Les plantes et leurs noms, Editions Quae, p : 108

D

Dar S.A., Ganai F.A., Yousuf A.R., Balkhi M.H., Bhat T.M and Sharma P., 2012. Pharmacological and toxicological evaluation of *Urticadioica* . *Pharmaceutical Biology*, 51 (2), p : 170-180 .

Dajoz R., 2010. Dictionnaire D'entomologie. Paris : Tec & Doc, p : 348.

Delobel A et Tran M., 1993. Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chauds, Faune tropicale XXXII. Paris, p : 103-106

Ding M., Feng R., Bowan L., Lu Y., Qian Y., Castranova V., Jiang B.H and Shi X., 2006. Cyanidin glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. *J Biol Chem*. 281, p : 17359-17368.

Djahra A.B., Bordjiba O et Benkherara S., 2013. Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie*, 11(6), p : 348-352.

Dohou N., Yamni K et Tahrouch S., 2003. Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bull Soc Phrm. Bordeaux*, p : 142, 61-78p.

Doumandji A., Doumandji S et Doumandji B., 2003. Technologie de transformations des blés et problèmes dus aux insectes au stock (Cours de technologie des céréales).Ed: Office publications universitaires, Alger, p : 68

E

Eckburg P.B., Bik E.M., Bernstein C.C.N., Purdom E., Dethlefsen L., Sargent M and *al.*, 2005. "Diversity of the human intestinal microbial flora". *Science*. 308.

Edeogal H.O., OKwu D.E.T and Mbaebie B.O., 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants.*African Journal of biotechnology*. Vol 4 (7), p :685-68.

F

Fajardo A., Linares J and Martínez J., 2009. Towards an ecological approach to antibiotics and antibiotic resistance genes. *Clin Microbiol Infect*, 15 (Suppl. 1), p : 14-16.

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M and., Abdelly C., 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities. *Compte Rendu de Biologie*, p : 331, 372, 379.

Farnsworth N., Akerele O., Bingel A., Soejarto D et Guo Z., 1986. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*.64(2), p : 159-164.

Fauchère J.L., 1997. Bactériofiches Techniques en bactériologie clinique. 15^e Edition. 32p.

Faure S., 2009. Transfert d'un gène de résistance aux B - lactamines bla.CTX - M - 9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie, Equipe d'accueil : unité Pharmacocinétique - Pharmacodynamie, AFSA Ecole Doctorale : Vie - Agro - Santé.

Faye, L et Champey Y., 2008. Plantes, médicaments et génétique Quelles applications pour demain ? *médecine/sciences* 24, p : 939–946.

Fouchère J.L et Loup J., 2002. Bactériologie générale et médicale. Paris Ellipses éditions 2002, p : 141-239.

Fournier P.V., 2010. Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuse de France. Paris : Omnibus, p : 529-836.

G

Gharbi R., Bendifallah W et Chebbah M., 2019. Isolement et caractérisation des curcuminoïdes du Rhizomes de *curcuma longa L* et l'étude de leur activité biologique.

Giraud C., Bernard C., Ruer S and al., 2010. Biological " glue " and "Velcro " : Molecular tools for adhesion and biofilm formation in the hairy and gluey bug *Pseudomonas aeruginosa*. *Env Microbiol Rep.* 2010 ; 2, p : 343-358.

Grunwald J et Janick C., 2006. Guide de la phytothérapie. 2^{ème} édition. Italie : marabout.

Godon, B et Willm C., 1998. Les industries de première transformation des céréales. Lavoision tec, doc Paris.

H

Hager T.J., Howard., L.R., Liyanage R., Lay J.O and Prior R.L., 2008. Ellagitannin composition of blackberry as determined by HPLC-ESI-MS and MALDI-TOF-MS. *J.*

Haines C.P., 1991. Insects and arachnids of tropical stored products: their biology and identification (a training manual).

Hami M., Taibi F., Smagghe G and Soltani-mazouni N., 2005. Comparative toxicity of three ecdysone agonist insecticides against the Mediterranean flour moth. *Comm. Agric. Appl. Biol. Sci.*, 70 (4), p : 767-773.

Hansw K., 2007. 1000 plantes aromatique et médicinales, Toulouse:Edition Terres, p :10 -13.

Haoulia A., 2015. Tests phytochimiques, dosage et recherche d'effet hémolytique des polyphénols totaux extrait de la partie aérienne d'*Ammoides verticillata* mémoire des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers Département de biologie université aboubekrbelkaid, tlemcen, p : 23.

I

Ibrir A et Babchikh S., 2015. "formulation et contrôle de qualité d'une crème cicatrisante a base du gel d'aloevera et de la bave d'escargot", mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master, université de Médéa.

Inventaire national du patrimoine naturel (INPN), 2003. Consulté le 27 mars 2023. Site web : <https://inpn.mnhn.fr>

J

Jakobsdottir G., Blanco N., Xu J., Ahrne S., Molin G., Sterner O et al., 2013. La formation d'acides gras à chaîne courte, l'excrétion des anthocyanes et la diversité microbienne dans les rats nourris cassis, mûres et framboises. *J Nutr Metab* 202534.

Jbilou R., Amri H., Bouayad N., Ghailani N., Ennabili A and Sayah F., 2008. Insecticidal effects of extracts of seven plant species on larval development, a-amylase activity and offspring production of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae) *Bioresource Technology*, 99, p : 959–964.

K

Karumi, Y., Onyeyili, P.A and Ogugbuaja., 2004. V.O. Identification of active principles of *M.balsamina* (balsam Apple) leaf extract. *J. Med. Sci*, 4(3), p : 179-182.

Kassemi N., 2014. Activité biologique des poudres et des huiles de deux plantes aromatiques (*pseudocytisus intergrifolius* salib et *nepeta nepetella* l.) sur les ravageurs du blé et des légumes secs. Thèse de doctorat en biologie, université de Tlemcen. 17-.... P.

Keller R., 1993. Description de la flore forestière française : guide écologique illustré. Montagnes. Paris. : Institut pour le développement forestier. p : 703-704.

Kemassi, A. Herouini, S. A. Hadj, R. Cherif, M. D. Ould Elhadj. 2019. Effet insecticide des extraits aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Euphorbiaceae) récoltée dans Oued Sebseb (Sahara Algérien) sur le *Tribolium castaneum*. *Journal Scientifique Libanais*. 20(1), p : 55-70.

Khan N., Al-Daghri N. M., Al-Ajlan A.S and Alokail M.S., 2014. The use of natural and derived sources of flavonoids and antioxidants in Saudi Arabia. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*. 1 (2), p: 100-106.

Kunkele U et Lobmeyer T.R., 2007. Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés et emplois. Edition parragon Books L tol, p : 33-318.

Kylli P., 2011. Berry phenolics: isolation, analysis, identification, and antioxidant properties. Thèse de doctorat. EKT-series 1502. University of Helsinki. Department of Food and Environmental Sciences, p : 90.

L

Laarem M., Barguigua A., Nayme K., Akilas A., Zerouali K., El Mdaghri N and Timinouni M., 2017. Occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance and virulence genes in avian *Escherichia coli* isolates from Algeria. *J Infect Dev Ctries* 11(2), p : 143-151.

Leonard S et Ngamo T., 2004. Conseil phytosanitaire interafricain. Bulletin d'information phytosanitaire. Ed. F.A.O Rome N, p : 44-58.

Lerant P., 2015. Les insectes : Histoires insolites. Versailles : Quae.

Lim T.K., 2012. Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants. *Springer*. 4, p : 544-554.

Liu Y. P., Yu X. M., Zhang W., Wang T., Jiang B., Tang H.X and Fu Y. H., 2020. Prenylated chromones and flavonoids from *Artocarpus heterophyllus* with their potential antiproliferative and anti-inflammatory activities. *Bioorganic Chemistry*, 101, p : 104030.

M

Madjdoub., 2013. Étude de l'activité insecticide des huiles essentielles de *rutacha lepensis*(l) sur les adultes de *tribolium castaneum* (herbst) et *sitophilus zeamais* (motsch.). 4^{ème} journées scientifiques sur la valorisation des bios ressources .Masson (Paris), p : 87.

Majhenic L., kergat M.S and Knez Z., 2007. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, p: 104, 1258–1268.

Mansour A., 2021. Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait de l'ortie *Urtica dioica*, Thèse de mémoire en Biologie, Université de Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, p : 76.

Marquina M.A., Corao G.M., Araujo L., Buitrago D and Sosa M., 2006. Hyaluronidase inhibitory activity from the polyphenols in the fruit of blackberry (*Rubus fruticosus* B.). *Fitoterapia*. 73, p: 727-729.

Martin S., D'addario C., Colacevich A., Focardi S., Borghini F., Santucci A., Figura N and Rossi C., 2009. Antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* strains and antioxidant properties of blackberry leaves (*Rubus ulmifolius*) and isolated compounds. *International Journal of Antimicrobial Agents*, p :1-46.

Messaoui S., 2008. Les plantes médicinales. Ed. 3^{ème}. Dar el fikr-Tunis, p :14-15.

Meyer C., Yunes R and Schempen V., 2005. Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae), *IL Farmaco*, 60 (4), p :321-326.

Meziti A., 2018. Régulation de l'inflammation par les extraits de *Rubus fruticosus* et *Zizyphus vulgaris*, Thèse doctorat.

Mohammedi., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielle et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, thèse de Magistère. Université de Tlemcen, p : 140.

Morel J.M., 2017. Traité pratique de Phytothérapie, Aromathérapie, Gemmothérapie. Grancher.

Mwakalukwa R., Ashour A., Amen Y., Niwa Y., Tamrakar S., Miyamoto T and Shimizu K., 2019. Anti-allergic activity of polyphenolic compounds isolated from olive mill wastes. *Journal of Functional Foods*, 58, p :207-217.

N

Nauciel C., Vildé J.L and Okmu D.E., 2005. Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *Int J Mol Adv Sci*; 2005, 1(14), p :375-381.

Nsemi F.M., 2010. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (Doctoral dissertation, Université Paul Verlaine-Metz).

O

Organisation mondiale de la santé., 2018. *Escherichia coli* (*E.coli*), <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

Organisation mondiale de la santé., 2020. Résistance aux antibiotiques, <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>

Ozturk, M., 2018. Plant and Human Health, Volume 1 Ethnobotany and Physiology.

P

Panizzi L.,Caponi C., Catalano S.,Cioni P.L and MorelliinI., 2001. Vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. Journal of Ethnopharmacologyvol, vol: 79, p : 165–168.

Petrovska B., 2012. Historical review of medicinal plants' usage. Pharmacogn. Rev. 6, p : 1-5.

Porter N., 2001. Essentiel oil and their production, crop and food research. Number 39.

R

Rajeswari T., Venil C.K., Sathya R., Sunitha K and Umavisalakshi S., 2010. Antimicrobial and Phytochemical Screening of *Rubus fruticosus*, p : 301.

Rameau J.K., Mansion D., Dumé G., Gauberville C., Bardat J., Bruno E et Keller R., 1993. Description de la flore forestière française : guide écologique illustré. Montagnes. Paris. Institut pour le développement forestier, p : 703-704.

Rameau J.K., Mansion D., Dumé G., Gauberville C., Bardat J., Bruno E et Keller R., 2003. Description de la flore forestière française : guide écologique illustré. Montagnes. Paris. Institut pour le développement forestier, p : 703-704.

Richard S., Gibbs R and Aweinstock G-M., 2008. The genome of the model beetle and pest *tribolium castaneum* nature. 452, p: 949–55. [Google scholar

Robinson W.H., 2005. Urban Insects and Arachnids: A Handbook of Urban.

Rubetti M., 2021. AntibioGramme : interprétation, technique, quand le faire ? Retrieved from : journaldesfemmes.fr.

S

Salem J H., 2009. Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitrera retusa* et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).

Samuel-peterson N., 2013. Cultural Competence in the Prevention and Treatment of cancer : The Case of Blueberries in North America, scientific research, vol:3. n°:2, p :65-70.

Sariburun E., Sahin S., Demir C., Türkben C and Uylaşer V., 2010. Phenolics content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. J. Food Sci, vol : 75 n°: 4, p :328-335.

Sarni-Manchado P et Cheynier V., 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec.et Doc. Lavoisier, p :11.

Scalbert A., 1991. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, p : 30, 3875-3883.

Schleifer K.H and Bell J.A., 2010. « Family VIII. *Staphylococcaceae* fam. nov. » In : De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, K.-H. S, Whitman WB (eds) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2ème édition, vol. 3 (The Firmicutes). Springer, New York. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-387-68489-5_3

Seck D., 1992. Importance économique et développement d'une approche de lutte intégrée contre les insectes ravageurs des stocks de maïs, mil et niébé en milieu paysan Proceedings deuxième séminaire sur la lutte intégrée contre les ennemis des cultures vivrières dans le Sahel, Bamako (Mali), p :2-4.

Sellappan S et Akoh C.C., 2002. Composés Krewer G. phénoliques et la capacité antioxydante de bleuets et les mûres Georgia-cultivées. J Agric Food Chem; 50, p : 2432-8.

Sentkowska A., Biesaga M and Pyrzynska K., 2016. Application of Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography for the Quantification of Flavonoids in *Genista tinctoria* Extract. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, p : 1-9.

Singleton V.L and Rossi J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*, p : 16, 144-153.

Sisti M., De Santi M., Fraternali D., Ninfali P., Scoccianti V and Brandi G., 2008. Antifungal activity of *Rubus ulmifolius* Schott standardized in vitro culture. *LWT - Food Sci. Tech*, vol: 41,p :946-950.

Smallfield B., 2001. Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*. Number 45, p : 4.

Société Française de Microbiologie (SFM),, 2019. *Pseudomonas aeruginosa*, <https://www.sfm-microbiologie.org>

Steffan J.R., 1987. Description Et Biologie .Les Insectes Et Les Acariens Des Céréales Stockées Ed.A.F.N.O.R Paris, p : 238.

T

Taylor T.A and Unakal C.G., 2022. *Staphylococcus aureus*. StatPearls. Treasure Island (FL).

Thangara J.H.S., Adjei O., Allen B. W and Portaels F., 2000. In-vitro activity of ciprofloxacin, sparfloxacin, ofloxacin, amikacin and rifampicin against Ghanaian isolates of *Mycobacterium ulcerans*. *Journal Antimicrobial Agents Chemotherp*, p : 45 (2), 231-233.

Toty A., Guessennd N., Bahi C., Kra A., Otokore D and Dosso M., 2013. Evaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harunganamadagascariensis* sur la croissance de souche multi-résistante. *bulletin de la société Royale des Sciences de Liège*, p : 12-21.

Tripathi A.K., Khanuja S.P.S. and Kumar S., 2002. Chitin synthesis inhibitors as insect-pest control agents. *J. Medicinal & Aromatic. Plant Sci.*, 24, p : 104–22.

V

Vacheron S., 2011. La phytothérapie Dans la prise en charge Des Troubles Veineux Al'Officine , laphyto-aromatherapie a l'officine niveau 2 .

W

Wada L., 2002. Activité et phénolique Ou B. Antioxydant contenu de framboisiers Oregon. *J Agr Food Chem.* 50 (Suppl 12), p : 3495-500.

Wagner H., 1993. Pharmazeutische Biologie. Drogen und irhe inhaltsstaffe, Gustav Fisher Verlag. SStuttgart-New-York, p : 50.

Wehrlen., 1985. La ronce (*Rubus Fruticosus L. agg.*) en forêt. Biologie de la ronce ; Définition, p :288-289.

Welia A.M., Al-Saadia H.S., Al-Fudhailia R.K., Hossaina A., Binti Putitb Z., Mahmood K and Jasimc., 2020. Cytotoxic and antimicrobial potential of different leaves extracts of *R. fruticosus* used traditionally to treat diabetes.

Wichtl M et Anton R., 2003. Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Lavoisier Tec & Doc.

Z

Zia-Ul-Haq M., Riaz M., De-Feo V., Jaafar H.Z and Moga M., 2014. *Rubus fruticosus* L.constituents, biological activities and health related uses. *Molecules.*19 (8), p : 10998-1029.