

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 5491 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma



## 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, antioxydante et insecticide d'une plante médicinale de la région de Guelma**

**Présenté par :**

❖ FRAHTIA Souhila

❖ LAYADA Manar

**Devant le jury composé de :**

<b>Présidente :</b>	Mme Torche. A	M.C.A	<b>Université de Guelma</b>
<b>Examinatrice :</b>	Mme Bedioui. S	M.C.B	<b>Université de Guelma</b>
<b>Encadreur :</b>	Mme Zidi. S	M.C.B	<b>Université de Guelma</b>

**Juin 2024**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## **Remerciements**

*Tout d'abord nous tenons à remercier DIEU le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté de terminer ce travail.*

*Nos sincères remerciements vont à **Mme Torche A.** qui nous a honorées par sa présence en présidant ce jury.*

*Nos remerciements vont également à **Mme Bédioui S.** d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail en espérant être à la hauteur de sa confiance.*

*Merci infiniment à notre promotrice **Mme Zidi. S** qui nous a dirigées avec une grande rigueur scientifique. Qu'elle soit remerciée également pour sa patience, ses conseils, et sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous exprimons également notre gratitude à **Mme Ratiba** et **Mme Nassima**, techniciennes du laboratoire de biochimie et d'immunologie de l'Université de Guelma, pour leur soutien dans la finalisation de notre projet de fin d'étude. Nous tenons à remercier également les autres techniciens des laboratoires (**Mehdi, Asma, Louisa, Hayet et Houda**) qui nous ont éclairées par leurs conseils et nous ont facilité le travail.*

*Nous souhaitons également exprimer notre gratitude sincère et profonde envers tous les enseignants qui ont contribué à notre formation, tout au long de notre cycle d'études.*

*Mille mercis à tous les employés du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Ibn Zohr -Guelma pour leurs valeureux conseils*

## *Dédicace*

*En exprimant ma profonde gratitude, je dédie ce modeste travail :*

*Ma chère mère Zahia,*

*Qui est pour moi le symbole de la bonté par excellence, je te consacre ce travail en témoignage de mon amour profond. Que Dieu le tout-puissant te préserve et te donne une bonne santé.*

*Mon cher père Djelloul,*

*Aucune dédicace ne peut rendre compte de l'amour, de l'estime, du dévouement et du respect que j'ai toujours ressentis pour toi. Les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être ne sont comparables à rien au monde.*

*À mon cher frère Adel et à ma chère sœur Amira*

*Je suis reconnaissante envers eux pour leurs efforts, leur amour et leurs encouragements tout au long de mes études.*

*Aux enfants de ma sœur.*

*Idriss et Wassim*

*À ma grand-mère mon amour*

*Mama Lila*

*À mon binôme Souhila*

*Qui a partagé avec moi les bons et mauvais moments durant la période de confection de ce mémoire de fin d'étude.*

*À mes amies Ferial et Intissar*

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mon amour, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.*

*À toute ma famille*

*À toute ma famille Layada et Belhimeur dont je suis fière et à qui je souhaite le meilleur des avenir*

*À mes camarades de la promotion – Master2 Biologie Moléculaire et cellulaire*

*Manar*

## **Dédicace**

*Je dédie ce travail avec tous mes sentiments sincères et mon immense gratitude À :*

### **Mon cher père Saleh**

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

### **Ma chère mère Warda**

*Ma reine qui est le cœur le plus pur et la personne la plus honnête que j'ai j mais connue*

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

### **Mes chers frères**

*Houcine, Karim, Aymen et ma sweetie sœur Souad et Amina et les épouses de mes frères Hanane et Samira. À l'époux de ma sœur Kamal, qui m'a aidé dans ce projet de fin d'étude. À mes petites nièces Ranime et Hazar ; Bassem et Wijdan , les étoiles qui brillent dans ma vie, mon soutien indéfectible.*

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

### **Ma douce collègue et binôme Manar**

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

### **Et ma chère et merveilleuse amie Heba**

*Qui est toujours là pour répondre à mes questions, merci beaucoup.*

### **Mes amis**

*Roufaïda, Manel, Rayene, Achwak, Hayem ... et la liste encore longue.*

*« Ceux avec qui le destin m'a réuni et dont je partage de beaux et inoubliables souvenirs, que vos journées soient aussi douces que vous. »*

*À mes tantes, mes oncles et leurs femmes, maris et enfants je vous souhaite tout le bonheur du monde.*

*À toute ma famille **Frahtia** et **Baara** dont je suis fière et à qui je souhaite le meilleur des avenir*

**Souhila**

## Résumé

Les plantes médicinales offrent une grande quantité de molécules bioactives, qui ont de nombreuses propriétés. Dans cette optique, notre étude a été réalisée afin d'évaluer l'efficacité antibactérienne et bio insecticide de trois extraits méthanoliques, aqueux et éthanoliques d'une plante comestible et médicinale récoltée de la région de Guelma : *Rubus fruticosus*. Les tests phytochimiques sur la poudre et les différents extraits de la plante ainsi que le test de DPPH ont révélé un potentiel antioxydant prometteur de la plante avec la présence de plusieurs principes actifs dont la quantité des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins est relativement satisfaisante. L'évaluation de l'activité antibactérienne de trois doses (2,5mg/ml, 5mg/ml et 10mg/ml) des trois différents extraits testés vis-à-vis des trois souches référenciées *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* montrent que tous les extraits présenteraient une efficacité contre ces bactéries à Gram positif et à Gram négatif à l'exception de l'extrait aqueux qui semble n'avoir aucune action vis-à-vis de *P. aeruginosa*. Ces extraits auraient une action bactériostatique vis-à-vis de ces souches bactériennes. L'évaluation de l'effet bio-pesticide de la plante vis-à-vis d'un insecte ravageur des denrées stockées *Tribolium castaneum* a révélé une efficacité dose-dépendante de tous les extraits utilisés et spécialement de l'extrait méthanolique qui augmente avec le temps d'exposition.

**Les mots clés :** *Rubus fruticosus*, principes actifs, activité antioxydante, activité antibactérienne, bio insecticides, *Tribolium castaneum*.

## Abstract

Medicinal plants offer a large number of bioactive molecules, which have many properties. In this perspective, our study was carried out to evaluate the antibacterial and bio-insecticide efficacy of three methanolic, aqueous and ethanolic extracts of an edible and medicinal plant harvested from the Guelma region: *Rubus fruticosus*. Phytochemical tests on the powder and the various extracts of the plant as well as the DPPH test revealed a promising antioxidant potential of the plant with the presence of several active principles including the number of total polyphenols, flavonoids and tannins is relatively satisfactory. The evaluation of the antibacterial activity of three doses (2,5mg/ml, 5mg/ml and 10mg/ml) of the three different extracts tested against the three referenced strains *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus* show that all extracts are effective against these Gram-positive and Gram-negative bacteria with the exception of the aqueous extract which seems to have no action against *P. aeruginosa*. These extracts have a bacteriostatic action vis-à-vis these bacterial strains. The evaluation of the bio-pesticide effect of the plant vis-à-vis an insect pest of the stored foodstuffs *Tribolium castaneum* revealed a dose-dependent efficiency of all the extracts used and especially of the methanolic extract which increases with the time of exposure.

**Keywords:** *Rubus fruticosus*, active ingredients, antioxidant activity, antibacterial activity, bio insecticides, *Tribolium castaneum*.

## ملخص

تقدم النباتات الطبية كمية كبيرة من الجزيئات النشطة بيولوجياً، والتي لها خصائص عديدة. من هذا المنظور، تم إجراء دراستنا لتقييم فعالية المبيدات الحشرية المضادة للبكتيريا والحيوية لثلاثة مستخلصات ميثانولية ومائية وإيثانولية لنبات صالح للأكل وطبي تم حصاده من منطقة Guelma: *Rubus fruticosus*. كشفت الاختبارات الكيميائية النباتية على المسحوق والمستخلصات المختلفة للنبات بالإضافة إلى اختبار DPPH عن إمكانات مضادة للأكسدة واعدة للنبات مع وجود العديد من المبادئ النشطة بما في ذلك كمية البوليفينول الكلي والفلافونويد والعفص مرضية نسبياً. يُظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لثلاث جرعات) مجم / مل 2.5 و 5 و مجم / مل (10 من المستخلصات الثلاثة المختلفة التي تم اختبارها ضد السلالات الثلاث المشار إليها *E. coli* و *P. aeruginosa* و *S. aureus* أن جميع المستخلصات فعالة ضد هذه البكتيريا الإيجابية الغرام والسلبية للجرام التي لا تحتوي على بكتريا المائبة باستثناء البكتريا المائبة. هذه المستخلصات لها عمل جرثومي تجاه هذه السلالات البكتيرية. كشف تقييم تأثير المبيدات الحيوية للنبات على آفة حشرية من المواد الغذائية المخزنة *Tribolium castaneum* عن كفاءة تعتمد على الجرعة لجميع المستخلصات المستخدمة وخاصة مستخلص الميثانوليك الذي يزداد مع وقت التعرض.

**الكلمات المفتاحية:** *Rubus fruticosus*، المكونات النشطة، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، المبيدات

الحشرية الحيوية، *Tribolium castaneum*

## Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumé

Introduction ..... 2

### *Première partie : Etude bibliographique*

#### *Chapitre N°1 :Phytothérapie et plantes médicinales*

1.La phytothérapie..... 6

1.1.Définition ..... 6

1.2.La phytothérapie en Algérie ..... 6

2.Les plantes médicinales..... 6

2.1.Définition ..... 6

2.2.L'origine des plantes médicinales ..... 7

2.2.1. Les plantes spontanées ..... 7

2.2.2. Les plantes cultivées ..... 7

2.3.Les principes actifs des plantes médicinales ..... 7

2.3.1. Les alcaloïdes ..... 7

2.3.2. Les flavonoïdes ..... 8

2.3.3. Les tanins ..... 8

2.3.4. Les mucilages..... 8

2.3.5. Les saponosides..... 8

2.3.6. Les stérols..... 8

2.3.7. Les terpènes..... 9

3.La plante étudiée (Rubus fruticosus L) ..... 9

3.1. Généralités sur la plante .....	9
3.2. Classification.....	10
3.3. Appellations de Rubus fruticosus.....	10
3.4. Description botanique .....	11
3.5. Aspects phytochimiques.....	12
3.6. Répartition géographique .....	13
3.7. Quelques avantages thérapeutiques de la ronce .....	13
3.7.1. Activité antioxydante et anticancéreuse.....	13
3.7.2. Activité anti-inflammatoire.....	14
3.7.3. Activité antidiabétique .....	14

### ***Chapitre N°02: Stress oxydatif et antioxydants***

1. Stress oxydatif.....	16
1.1.Définition .....	16
1.2.Espèces réactives de l'oxygène (ERO) .....	16
2.Antioxydants .....	16
2.1.Définition .....	16
2.2.Classification des antioxydants .....	17

### ***Chapitre N°3 :Bactériologie***

1.Souches bactériennes potentiellement pathogènes : .....	19
1.1. Escherichia coli .....	19
1.1.1. Classification.....	19
1.1.2. Habitat.....	19
1.2 .Pseudomonas aeruginosa.....	20
1.2.1. Classification.....	20

1.2.2. Habitat .....	20
1.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	21
1.3.1 Classification .....	21
1.3.2 Habitat.....	21
2. Pouvoir pathogène.....	21
3. Antibiotiques .....	23
3.1.Critères de classification .....	23
3.2.Résistance aux antibiotiques .....	24

#### **Chapitre N°4: Tribolium castaneum**

2. <i>Tribolium castaneum</i> .....	26
2.1. Classification.....	27
2.2. Différents stades de développement.....	27
2.3.Facteurs de développement .....	28
2.4.Répartition géographique .....	30
2.5.Moyens de lutte contre <i>T. castaneum</i> .....	30
2.5.1. Lutte chimique .....	30
2.5.2. Lutte biologique.....	30
2.5.3. Lutte physique .....	30
2.5.4. Lutte préventive .....	31

#### ***Etude expérimentale***

##### ***Chapitre N°01: Matériel et méthodes***

1.Matériel .....	34
1.1. Matériel biologique .....	34
1.1.1. Matériel végétal.....	34
1.1.2. Souches bactériennes testées.....	34

1.1.3. Insecte testé .....	34
1.2. Milieux de culture .....	35
2.Méthodes .....	35
2.1. Préparation du matériel végétal.....	35
2.1.1. Préparation de la poudre de plante .....	35
2.1.2. Préparation des extraits .....	35
2.2. Calcul du rendement d'extraction .....	36
2.3.Screening phytochimique (Tests préliminaires de la composition chimique) .....	36
2.3.1. Au niveau de la poudre de plante .....	36
2.3.2. Au niveau des extraits .....	37
2.4.Evaluation des principes actifs dans les différents extraits préparés .....	38
2.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux .....	38
2.4.2. Dosage des flavonoïdes .....	40
2.4.3. Dosage des tanins .....	41
2.5Evaluation du potentiel antioxydant des différents extraits par le test du piégeage du radical DPPH.....	42
2.6Etude de l'activité antibactérienne des extraits de <i>Rubus fruticosus</i> et des antibiotiques...	43
2.6.1 Antibiogramme par la méthode des disques par diffusion en milieu gélosé .....	43
2.6.2.1Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) .....	46
2.6.2.2Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) .....	46
2.7. Etude de l'activité insecticide des extraits de <i>Rubus fruticosus</i> .....	47
2.7.1. Traitement par application topique sur <i>T. castaneum</i> .....	47

## Chapitre N°02: Résultats et discussion

1.Calcul du Rendement des différents extraits.....	50
2.Tests phytochimiques.....	50
3.Evaluation des principes actifs dans les différents extraits préparés .....	53
3.1.Dosage des phénols totaux .....	53
3.2.Dosage des flavonoïdes.....	54
4. Evaluation du potentiel antioxydant des différents extraits par le test du piégeage du radical DPPH.....	57
5.Etude de l'activité antibactérienne .....	58
5.1. Sensibilité d' <i>Escherichia coli</i> vis-à-vis des extraits et des antibiotiques.....	58
5.2. Sensibilité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis des extraits et des antibiotiques .....	60
5.3. Sensibilité de <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis des extraits et des antibiotiques.....	62
5.4. Détermination des paramètres antibactériens des différents extraits de la Ronce.....	64
6. Evaluation de l'activité insecticide des extraits de <i>Rubus fruticosus</i> vis-à-vis des adultes de <i>Tribolium castaneum</i> .....	65
6.1. Effet bio insecticide de l'extrait méthanolique .....	66
6.2. Effet bio insecticide de l'extrait éthanolique.....	68
6.3. Effet bio insecticide de l'extrait aqueux.....	71
Conclusion et Perspectives.....	75
Les références Bibliographiques .....	78

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Le genre <i>Rubus</i> L.....	10
<b>Figure 2:</b> <i>Rubus fruticosus</i> (feuilles, fleurs et fruits).....	12
<b>Figure 3:</b> Les différents types d'antioxydants .....	17
<b>Figure 4:</b> Adulte de <i>Tribolium castaneum</i> .....	26
<b>Figure 5:</b> Cycle de développement de <i>T. castaneum</i> .....	29
<b>Figure 6:</b> Dimorphismes sexuels au stade pupes et adulte de <i>T. castaneum</i> .....	29
<b>Figure 7:</b> Protocole expérimental de dosage des flavonoïdes .....	40
<b>Figure 8:</b> Protocole expérimental de la méthode du Piégeage du DPPH.....	43
<b>Figure 9:</b> Traitement par application topique sur <i>T. castaneum</i> .....	48
<b>Figure 10:</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .....	54
<b>Figure 11:</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine. ....	55
<b>Figure 12:</b> Courbe d'étalonnage de la catéchine .....	56
<b>Figure 13:</b> Pourcentage d'inhibition du radical DPPH .....	57
<b>Figure 14:</b> Evaluation de l'effet toxique de l'extrait méthanolique de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> <b>après 24h</b> de traitement. ....	66
<b>Figure 15:</b> Evaluation de l'effet toxique de l'extrait méthanolique de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> <b>après 48h</b> de traitement. ....	67
<b>Figure 16:</b> Evaluation de l'effet toxique de l'extrait méthanolique de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> <b>après 72h</b> de traitement. ....	68
<b>Figure 17:</b> Evaluation de l'effet toxique de l'extrait éthanolique de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> <b>après 24h</b> de traitement. ....	69
<b>Figure 18:</b> Evaluation de l'effet toxique de l'extrait éthanolique de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> <b>après 48h</b> de traitement. ....	69
<b>Figure 19:</b> Evaluation de l'effet toxique de l'extrait éthanolique de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> <b>après 72h</b> de traitement. ....	70
<b>Figure 20:</b> Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> <b>après 24h</b> de traitement. ....	71
<b>Figure 21:</b> Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> <b>après 48h</b> de traitement. ....	72
<b>Figure 22:</b> Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de <i>Rubus fruticosus</i> sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> <b>après 72h</b> de traitement. ....	73

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Classification de <i>Rubus fruticosus</i> .....	10
<b>Tableau 2:</b> Les différents noms vernaculaires de <i>Rubus fruticosus</i> .....	11
<b>Tableau 3:</b> Classification d' <i>Escherichia coli</i> .....	19
<b>Tableau 4:</b> Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	20
<b>Tableau 5:</b> Classification de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	21
<b>Tableau 6:</b> Pouvoir pathogène d' <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>S. aureus</i> . .....	22
<b>Tableau 7:</b> Position systématique de <i>T.castaneum</i> .....	27
<b>Tableau 8:</b> Références des souches bactériennes étudiées.....	34
<b>Tableau 9:</b> Protocole de dosage des polyphénols totaux .....	39
<b>Tableau 10:</b> Protocole de dosage des tanins .....	41
<b>Tableau 11:</b> Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme .....	45
<b>Tableau 12:</b> Rendements des extraits.....	50
<b>Tableau 13:</b> Tests phytochimiques appliqués à la poudre de plante.....	50
<b>Tableau 14:</b> Tests phytochimiques appliqués à l'extrait aqueux .....	51
<b>Tableau 15:</b> Tests phytochimiques appliqués à l'extrait méthanolique .....	51
<b>Tableau 16:</b> Tests phytochimiques appliqués à l'extrait éthanolique. ....	52
<b>Tableau 17:</b> Teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles de <i>Rubus fruticosus</i> .....	53
<b>Tableau 18:</b> Teneurs en flavonoïdes des extraits des feuilles de <i>Rubus fruticosus</i> .....	55
<b>Tableau 19:</b> Teneur en tanins condensés des extraits des feuilles de <i>Rubus fruticosus</i> .....	56
<b>Tableau 20:</b> Les valeurs IC50 des différents extraits de <i>Rubus fruticosus</i> .....	58
<b>Tableau 21:</b> Sensibilité d' <i>E coli</i> vis-à-vis des différents extraits de la ronce et des antibiotiques .....	59
<b>Tableau 22:</b> Sensibilité de <i>P aeruginosa</i> vis-à-vis des différents extraits de la ronce et des antibiotiques. ....	61
<b>Tableau 23:</b> Sensibilité de <i>S aureus</i> vis-à-vis des différents extraits de la ronce et des antibiotiques. ....	62
<b>Tableau 24:</b> La CMI des différents extraits vis-à-vis des différentes souches bactériennes ..	64

## Liste d'abréviations

<b>CMB</b>	<b>Concentration Minimale Bactéricide</b>
<b>CMI</b>	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>Gen 10</b>	Gentamicine
<b>EQ</b>	Equivalent de la quercitrine
<b>EAG</b>	Equivalent d'acide gallique
<b>EC</b>	Équivalents de catéchine
<b>M</b>	Mortalité observée
<b>Mc</b>	Mortalité corrigée
<b>PI%</b>	Pourcentage d'inhibition
<b>Va30</b>	Vancomycine

---

# **Introduction**

---

### Introduction

Deux points sont essentiels dans la vie des êtres vivants notamment les êtres humains, leurs besoins nutritionnels en denrées de bases : riz, blé, maïs etc et leur santé (**Gonzlez et al., 2023**).

La farine de blé constitue une source fondamentale de denrées alimentaires. Cependant, certaines conditions de stockage peuvent favoriser son infestation par des insectes ravageurs tels que *Tribolium castaneum* et engendrer des pertes économiques. L'utilisation des insecticides de synthèse constitueraient un danger pour la santé humaine et animale. Ces molécules synthétiques sont considérées comme une source de pollution de l'environnement et donc une cause principale de déséquilibre écologique (**Aoues, 2018 ; Cherrou, 2023**).

L'utilisation des médicaments tels que les antibiotiques est remise en question en raison des risques toxiques potentiels de ces substances, sans oublier la résistance croissante des bactéries due à la mauvaise utilisation de ces molécules. En effet, les maladies nosocomiales dues principalement à cette résistance bactérienne sont considérées comme un problème majeur de santé publique. Il s'ajoute à ceux-là le coût relativement élevé des médicaments et antibiotiques pour une certaine catégorie défavorisée de la population (**Bougandoura et Bendimerad, 2013 ; Chevance et al., 2020**).

Tous ces problèmes ont poussé et orienté la recherche vers l'identification de nouvelles biomolécules moins agressives pour la santé et l'environnement qui possèderaient aussi bien une activité antibactérienne qu'une activité insecticide (**Karahacane, 2015**).

Les plantes et leurs composés, essentiellement antioxydants sont très étudiées et fréquemment employés dans le domaine de la médecine traditionnelle et de l'agroalimentaire comme conservateurs naturels, en raison de leurs différents potentiels : antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire, anticancéreux, insecticide etc (**Bouyahya et al., 2017 ; Pacôme Serge Gouegoui et al., 2018**).

L'Algérie et grâce sa richesse et diversité floristique, détient un énorme réservoir phylogénétique avec plus de 3000 espèces végétales appartenant à plusieurs familles botaniques ce qui pousse l'homme à profiter de cette richesse en ayant recours à la médecine empirique (**Bou-zid et al., 2016 ; Tabti, 2024**).

Dans ce contexte et dans le but de la valorisation de la flore algérienne, nous nous sommes intéressés à l'étude et l'évaluation du potentiel antioxydant, de l'effet antibactérien et insecticide d'une plante très répandue dans la région de Guelma : le mûre sauvage ou *Rubus fruticosus L.*, qui est couramment employée par la population locale. C'est une plante vivace appartenant à la famille des rosaceae qui renferme de nombreux métabolites bioactifs et antioxydants, lui attribuant un potentiel thérapeutique et des bienfaits agroalimentaires (**Afif Chaouche et al., 2015**).

Notre travail s'articule autour de deux parties :

La première partie de l'étude renferme une synthèse bibliographique qui inclut quatre chapitres.

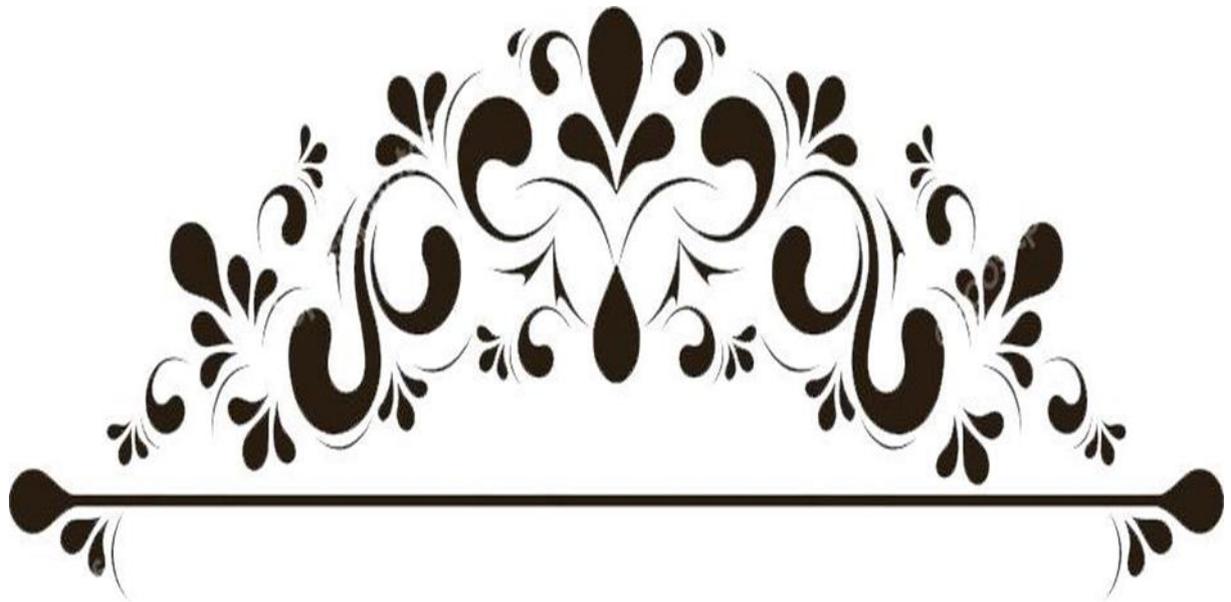
- ✓ Le premier chapitre est consacré à un rappel sur les plantes médicinales et la plante étudiée.
- ✓ Le deuxième est dédié au stress oxydant.
- ✓ Le troisième est dédié aux bactéries utilisées dans l'étude
- ✓ Le quatrième est dédié à l'insecte utilisé (*Tribolium castaneum*).

La deuxième partie est consacrée à la méthodologie utilisée, qui est subdivisée en deux volets :

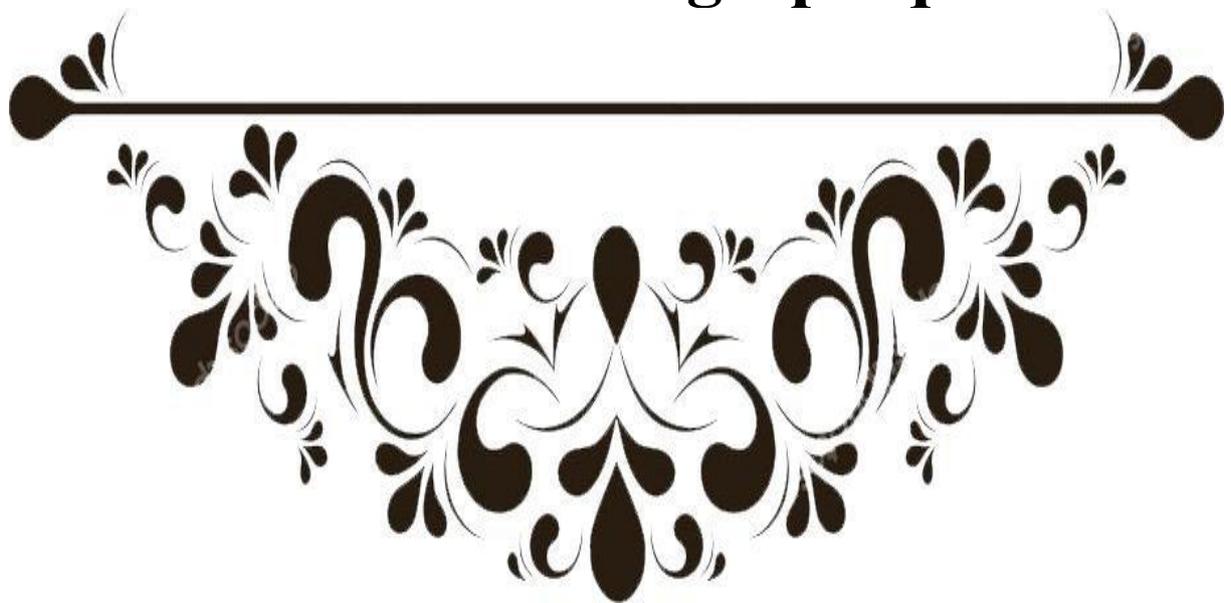
Le premier portant sur :

- Un screening phytochimique effectué sur la poudre et les extraits de plante.
- Un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés.
- Une étude de l'activité antioxydante des extraits de cette plante par la méthode de DPPH.
- Une étude de l'activité antibactérienne et insecticide de différentes doses des différents extraits (aqueux, éthanoliques et méthanoliques) de la plante étudiée.

Le dernier chapitre sera consacré aux résultats obtenus de l'étude et à leur discussion qui se terminera par une conclusion et perspectives.



**Première partie :**  
**Etude bibliographique**



---

**Chapitre N°1**  
**Phytothérapie et plantes médicinales**

---

## 1. La phytothérapie

### 1.1. Définition

Le terme phytothérapie tire son origine de deux racines grecques : phyton et therapeia qui font référence respectivement à la « plante » et au « traitement ». La phytothérapie est ainsi une médecine allopathique qui a pour objectif de prévenir et de traiter certains problèmes fonctionnels et/ou états pathologiques en utilisant des plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**Wichti et Auton, 2003**).

Il est important de ne pas confondre cette discipline avec la phytopharmacie qui quant à elle, désigne l'ensemble des substances utilisées pour traiter les plantes, à savoir les pesticides, fongicides, herbicides, ou encore insecticides (**Prescrire, 2007**).

### 1.2. La phytothérapie en Algérie

En Algérie, les plantes sont largement utilisées en médecine traditionnelle. Au cours des années, la phytothérapie a connu une grande popularité ; des herboristes sont présents partout et sans aucune formation spécialisée ou connaissance scientifique. Ils prescrivent des médicaments utilisant des plantes et des mélanges pour traiter toutes les maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables. Des chiffres recueillis auprès du centre national du registre de commerce, montrent qu'à la fin 2009, l'Algérie comptait 1926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1393 sédentaires et 533 ambulants. La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand nombre avec 199 magasins, suivi de la wilaya de Sétif (107), Bechar (100) et el oued avec 60 magasins (**Boumediou et al., 2017**).

## 2. Les plantes médicinales

### 2.1. Définition

D'après la définition donnée par l'OMS, une plante médicinale est une plante ou un de ses organes qui contient des substances qui peuvent être employées pour un but thérapeutique ou qui sont des précurseurs pour la synthèse d'autres drogues utiles et dont les propriétés thérapeutiques sont prouvées scientifiquement ou de manière empirique par l'emploi en médecine traditionnelle (**Amini, 2010**).

## 2.2. L'origine des plantes médicinales

Deux origines distinguent les plantes médicinales : les plantes spontanées appelées « sauvages » ou « cueillies » et les plantes cultivées (**Chabrier, 2010**).

### 2.2.1. Les plantes spontanées

Plusieurs raisons justifient l'exploitation des plantes sauvages, les peuplements « spontanés » peuvent suffire à une demande pharmaceutique modeste et sont même capables de combler des exigences supérieures quand ils existent en abondance à cela s'ajoutent parfois des difficultés ou impossibilités de culture (**Derfallou et ghadri, 2017**)

### 2.2.2. Les plantes cultivées

Les plantes cultivées assurent une matière première en quantité suffisante pour répondre aux besoins et les drogues recueillies sont homogènes de par leur aspect et leur composition chimique (**Jean-yves, 2010**)

## 2.3. Les principes actifs des plantes médicinales

La plante est le siège d'une intense activité aboutissant à la synthèse des substances les plus diverses, ce sont les principes actifs. Ces substances sont issues du métabolisme secondaire, appartenant à plusieurs familles, dont les principales sont utilisées en phytothérapie (**Bachelet, 2013**)

Il y a un certain temps où la proportion de substances actives pour les plantes médicinales est élevée ; c'est le moment le plus approprié pour collecter des plantes médicinales. Il y a des plantes qui sont conseillées pour collecter leurs parties effeées au petit matin, dans lequel la concentration de leurs substances actives est élevée, contrairement à la période du soir ainsi que selon les saisons de l'année (**Hashemyounisatee, 2020**).

Parmi les principes actifs nous pouvons citer :

### 2.3.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont une catégorie de substances organiques qui contiennent des bases azotées. Ils sont principalement fabriqués en tant que métabolites secondaires dans les plantes et les champignons, et ils possèdent une variété d'activités biologiques. Ils sont parmi les substances végétales les plus variées, les plus efficaces et les plus importantes sur le plan thérapeutique. (**Casciaro et al., 2020**)

### 2.3.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes présents dans la plupart des plantes, sont des pigments poly phénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales : antioxydantes, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie telles que l'hespéridine et la rutine qui sont présentes dans plusieurs plantes (**Iserin et al., 2001**).

### 2.3.3. Les tanins

De nombreuses plantes contiennent plus ou moins de tanins ; ceux-ci donnent à la plante un gout amer. Les tanins sont des composants polys phénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Les plantes riches en tanins sont largement utilisées pour traiter les maladies du système digestif (**Iserin, 2001**).

### 2.3.4. Les 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**).

### 2.3.5. Les saponosides

Les saponines sont des substances métaboliques secondaires couramment présentes dans les plantes et les organismes aquatiques. Les surfactants naturels sont perçus comme des molécules amphiphiles qui ont la capacité de réduire la tension superficielle d'une solution aqueuse, ce qui en fait de bons composés moussants. (**Pierra, 2020**).

### 2.3.6. Les stérols

Les stérols sont des graisses végétales qui existent chez presque toutes les plantes mais leur concentration est variable. Ils ont une structure semblable à celle du cholestérol ; il se peut qu'ils ralentissent son absorption et réduisent la quantité de cette substance dans l'organisme. Ils pourraient jouer aussi un rôle important sur le système immunitaire. En effet, ils ont montré une activité anticancéreuse très importante (cancer du sein et de la prostate) (**Eberhard et al., 2005**).

### 2.3.7. Les terpènes

La dénomination des terpènes est attribuée à Kekulé (ter=térébenthine ; pène=pin). Il s'agit de composés constitués par la combinaison de deux ou plusieurs unités isopréniques (2-méthylbuta 1,3-diène : unité présentant cinq carbones) (Alloun, 2019).

## 3. La plante étudiée (*Rubus fruticosus* L)

### 3.1. Généralités sur la plante

*Rubus fruticosus* (rosaceae) est un arbuste arménien, très répandu bien connu pour ses fruits délicieux communément appelés mures et sont considérés comme l'une des meilleures sources alimentaires de divers composés bioactifs tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes (Teresa Nonforte et al., 2018).

Le genre *Rubus* comprend les mures, les framboises et leurs hybrides et est communément appelé ronces ; il peut se découper en trois sous genres :

- Les framboises avec leurs fruits rouges, recouverts de nombreux poils courts, appelé « Sous-genre *Idaeobatus* ».
- Le deuxième, c'est le petit *Rubus* qui donne des fruits rouge vif avec peu de Drupéoles (petites boules qui forment le fruit) toutes glabres qui forme à lui seul le « Sous-genre *Cylactis* ».
- Le dernier, sous-genre des ronces qui donnent comme fruit ce que nous appelons les Mûres, c'est le « sous-genre *Rubus* » (Folta et gradiner, 2009 ; Hummer, 2010).

Les ronces (*Rubus* L) (Figure 01) sont un genre de plante ligneuses, de la famille des rosacées qui comprend des plantes appelées « ronces » mais aussi plaquebrière ou parfois mure dans le langage usuel, à ne pas confondre avec le genre (*Morus*) ou muriers (Couplan, 2012).



**Figure 1:** *Le genre Rubus L* (<https://fr.wikipedia.org/wiki>)

### 3.2. Classification

D'après la classification, *Rubus fruticosus* appartient aux dicotylédones. Cette plante est classée selon le **tableau 01** de la manière suivante :

**Tableau 1:** Classification de *Rubus fruticosus* (Zia-UI-Haq et al.,2014)

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Sous embranchement</b>	<i>Magnoliophytina</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous classe</b>	<i>Rosidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Rosales</i>
<b>Famille</b>	<i>Rosaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Rubus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Rubus fruticosus</i>

### 3.3. Appellations de *Rubus fruticosus*

D'après **Lim (2012)** plusieurs noms vernaculaires sont attribués à cette plante (**Tableau 02**) :

**Tableau 2:** Les différents noms vernaculaires de *Rubus fruticosus*

<b>Nom français</b>	Ronce commune, ronce des bois, ronce des haies, ronce européenne, mures sauvages
<b>Nom anglais</b>	BlackBerry
<b>Nom arabe</b>	Tut el ullayq

### 3.4. Description botanique

*Rubus fruticosus* L. est un arbuste à épines caduques vivaces, presque dressées, avec une tige enchevêtrée et arquée qui pousse jusqu'à 3 m à un rythme rapide. Il pousse dans le jardin boisé. Cette plante buissonneuse est épineuse, mais certaines variétés cultivées sont exemptes d'épines. Les murs sont vivaces et durent trois saisons ou plus (**Figure 02**) (**Zia-UI-Haq et al., 2014**).

#### ✓ Les graines

Elles sont brun clair à brun foncé, légèrement triangulaires, de 2 à 3 mm de long, profondément et irrégulièrement dénoyautées.

#### ✓ Les racines

La plupart des racines se trouvent dans les 20 premiers cm du sol mais quelques-unes ont une profondeur allant jusqu'à 1 m. Il y a une couronne bien définie au niveau du sol.

#### ✓ La tige

Les tiges sont arquées ou trainées jusqu'à 7 mètres de long, vertes, violacées ou rouges, lisses ou modérément velues, rondes ou inclinées, avec de nombreuses pièces courbées ou droites de différentes tailles.

#### ✓ Les feuilles

Elles sont composées de trois ou cinq folioles ovales, habituellement vert foncé au-dessus et vert plus clair au-dessous, avec de petites dents sur les bords (**Figure 02**).

#### ✓ Les fleurs

Elles sont blanches ou roses, constituées de cinq pétales. Elles ont un diamètre entre 2-3 cm et sont formées en grappes aux extrémités des branches courtes (**Figure 02**).

## ✓ Les fruits

Une baie qui change de couleur du vert au rouge au noir à mesure qu'elle mûrit, composée d'un agrégat de segments charnus ou de drupètes chacun contenant une graine (**Figure 02**) (**Rameshwar et al., 2014**).



**Figure 2:** *Rubus fruticosus* (feuilles, fleurs et fruits) (<https://fr.wikipedia.org/wiki>)

### 3.5. Aspects phytochimiques

Les différentes parties végétales (tiges, feuilles et racines) de la ronce contiennent divers types de composants phytochimiques tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les glycosides, les terpenoïdes, les stérols et les glucides. Elles sont constituées également de l'acide ascorbique, des acides organiques et des huiles volatiles. Les mûres contiennent de nombreux composés phytochimiques, notamment des polyphénols, des flavonoïdes, des anthocyanes, de l'acide salicylique, de l'acide ellagique et des fibres. Elles ont à la fois des fibres solubles et insolubles (**Rameshwar et al., 2014**).

La composition des polyphénols dans le genre *Rubus* est influencée par divers éléments: la génétique, l'écologie, les méthodes culturelles, le climat, la phase de collecte, les conditions et la durée de stockage. (**Samuel-Peterson, 2013**)

### 3.6. Répartition géographique

La ronce est très commune dans tous les types d'habitats, mais elle ne fructifie régulièrement et abondamment que dans les haies, les clairières et les coupes forestières récentes ; son aire de répartition se situe en majorité dans les régions où la pluviosité moyenne annuelle est de l'ordre de 750mm. Elle s'adapte aussi aux régions dont la pluviosité annuelle est plus importante (jusqu'à 1500 mm), mais on trouve plus rarement la ronce lorsque les précipitations annuelles sont inférieures à 500 mm. Pour le régime hydrique, la ronce se plaît aussi bien en régime normal qu'en régime sec (**Fortier, 2003**).

L'espèce est présente sur tout l'hémisphère nord, des régions froides aux régions tempérées, du bord de mer balayé par les embruns au bord des glaciers à 2300 mètres d'altitude. Le mûrier sauvage s'est acclimaté en Amérique et en Australie. (**Afif Chaouche, 2015**).

En Algérie, il se trouve dans les régions côtières méditerranéennes. On le retrouve aussi dans les hauts plateaux et certaines régions comme : Blida, Constantine, Tizi Ouzou, etc... (**Iserin, 2001**).

### 3.7. Quelques avantages thérapeutiques de la ronce

#### 3.7.1. Activité antioxydante et anticancéreuse

Selon **Jiao et Wang (2000)**, les mûres contiennent des quantités élevées d'anthocyanines, de phénols et de flavonols, ce qui les rend de puissants inhibiteurs de radicaux libres. Généralement, l'activité antioxydante des plantes est due aux contenus phénoliques et flavonoïdes (**Buricova et al., 2011**).

Les mûres sont également réputées pour leurs vertus anticancéreuses, comme mentionné précédemment, elles détruisent les radicaux libres qui causent des dommages aux cellules et peuvent entraîner le cancer. Elles contribuent aussi à préserver et à renforcer l'immunité, et à réduire le nombre de tumeurs et de leur croissance en induisant l'arrêt du cycle cellulaire ou de l'apoptose et en modifiant la signalisation cellulaire (**Scalbert et al., 2005 ; Garcia-Lafuente et al., 2009**).

### 3.7.2. Activité anti-inflammatoire

Plusieurs recherches ont démontré que leurs composés métaboliques joueraient également un rôle de régulateurs des voies de signalisation de l'inflammation. Selon les recherches réalisées chez des individus sains, il a été démontré que le suivi d'un régime alimentaire riche en fruits était inversement lié aux marqueurs de l'inflammation (CRP, IL-6) présents dans le plasma, que la consommation d'anthocyanes était liée à une diminution du taux de cytokines circulantes (IL-8, IL-13 et IFN- $\alpha$ ) (Karlsen et al., 2007 ; Salas-Salvado et al., 2008).

### 3.7.3. Activité antidiabétique

*R. fruticosus* a été employé en Europe dans le traitement du diabète. Un taux de 70% d'un extrait des feuilles avec de l'eau et du butanol a été démontré efficace pour le traitement et la prévention du diabète non insulino-dépendant à partir d'une hyperglycémie chez les rats diabétiques en agissant par différents mécanismes dont l'inhibition de l'absorption du glucose au niveau intestinal, ou encore son assimilation dans les tissus périphériques (inhibition de la gluconéogenèse, de la stimulation adrénergique, de l'absorption du glucose ou stimulation de la libération de l'insuline par les cellules  $\beta$  du pancréas (Scalbert et al., 2005 ; Xu et al., 2006 ; Dembinska-Kiec et al., 2008).

---

# **Chapitre N°02**

## **Stress oxydatif et antioxydants**

---

## 1. Stress oxydatif

### 1.1. Définition

Selon Helmut Sies, le concept de « stress oxydatif » désigne un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et le réseau antioxydant, ce qui peut causer des dommages aux systèmes biologiques (**Forman et al., 2021 ; Hajam et al., 2022**).

Le stress oxydatif est lié à diverses affections. Il est classé en deux catégories : d'une part, le stress oxydatif est une cause principale de maladies (y compris la toxicité causée par les radiations et les produits toxiques, ainsi que l'athérosclérose); d'autre part, le stress oxydatif est un facteur secondaire aux facteurs de progression de la maladie (par exemple, la maladie pulmonaire obstructive chronique, l'hypertension et la maladie d'Alzheimer).(**Forman et al., 2021**).

### 1.2. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

L'oxygène joue un rôle crucial dans les organismes multicellulaires car il permet de générer de l'énergie en oxydant de la matière organique. Cependant, notre organisme transforme une partie de cet oxygène en des métabolites toxiques, les radicaux libres organiques (**Zibouche et Grimes, 2016**). Ces radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène ERO sont des substances chimiques (atomes ou molécules) qui ont un électron unique (ou électron non apparié) sur leur surface externe (exp : l'ion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle etc). Ils présentent le principal risque de causer des dommages lorsqu'ils interagissent avec des éléments cellulaires essentiels tels que l'ADN ou la membrane cellulaire, ce qui peut entraîner une multiplication anormale des cellules, entraînant un dysfonctionnement, une mort cellulaire, le vieillissement des cellules voire un cancer (**Zibouche et Grimes, 2016**).

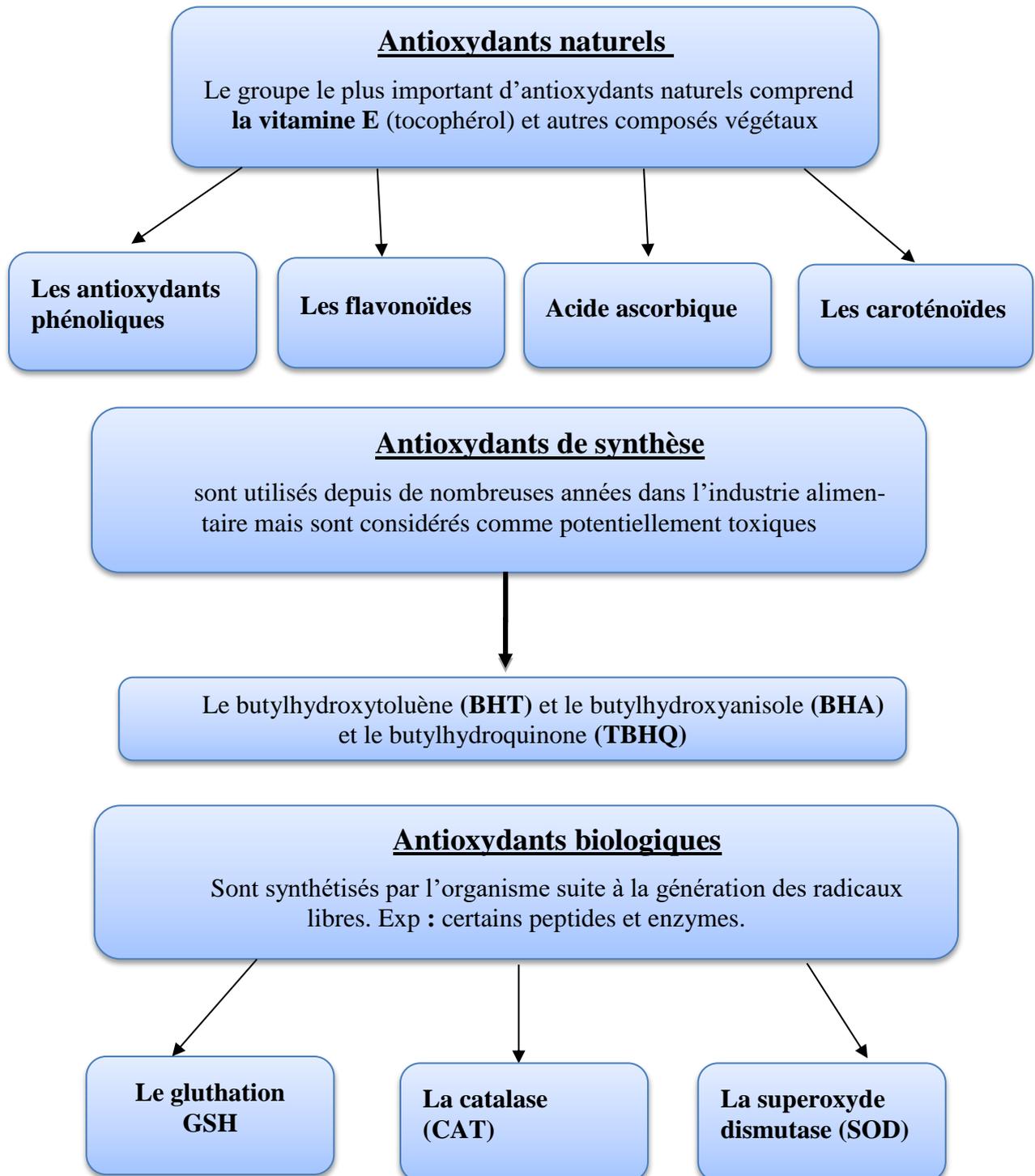
## 2. Antioxydants

### 2.1. Définition

Selon **Halliwell & Gutteridge (1995)**, un antioxydant est une substance qui, à une concentration faible par rapport au substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat. Les antioxydants sont des substances, qu'elles soient naturelles ou ajoutées, ralentiront l'oxydation des organismes et sont aussi considérées comme essentielles pour préserver la qualité des aliments riches en lipides des oxydations (**Ziani, 2017**).

## 2.2. Classification des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés en trois catégories selon leur origine (naturelle, de synthèse ou biologique)



**Figure 3:** Les différents types d'antioxydants (Ziani, 2017).

---

**Chapitre N°3**  
**Bactériologie**

---

## 1. Souches bactériennes potentiellement pathogènes :

### 1.1. *Escherichia coli*

En 1885, le pédiatre allemand autrichien Theodor Escherich a découvert *Escherichia coli*, également connu sous le nom de colibacille, à partir d'un échantillon de selles humaines. Il s'agit d'un bacille de longueur d'environ 2-3 µm et de diamètre de 0,6 à 0,7 µm, à Gram négatif, non sporulé, souvent mobile, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est un hôte commun du tube digestif chez les humains et les animaux. Les espèces d'*Escherichia* sont *E. albetii*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulnérans*, dont *E. coli* est l'espèce-type. En se basant sur ses antigènes de surface (O somatique, antigène flagellaire H et antigène capsulaire K (Amairi, 2021).

#### 1.1.1. Classification

Selon Delarras et ses collègues (2010) (Tableau 03), l'espèce *Escherichia coli* a été classée comme suit :

**Tableau 3:** Classification d'*Escherichia coli* (Delarras et al., 2010).

<b>Domaine</b>	<i>Eubacteria</i>
<b>Phylum</b>	<i>Proteobacteria</i>
<b>Classe</b>	<i>Gammproteobacteria</i>
<b>Ordre</b>	<i>Enterobacteriales</i>
<b>Famille</b>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Escherichia coli</i>

#### 1.1.2. Habitat

*E. coli* est une microflore intestinale fréquente chez l'homme et la plupart des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux). Dans les premières heures qui suivent la naissance, elle colonise sans symptômes le tractus digestif de l'homme et devient ainsi la principale espèce bactérienne de la flore anaérobie facultative du colon humain. Sa niche écologique se trouve dans la couche du mucus produite par l'épithélium du côlon, où elle joue un rôle essentiel en tant que barrière protectrice de la muqueuse. Chez les autres mammifères, elle est moins élevée,

mais *E. coli* peut se déplacer dans l'eau et les sédiments. On l'utilise pour mesurer la contamination fécale de l'eau. (Pantel, 2015).

## 1.2 *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* est un bacille à Gram négatif, aérobic strict, à métabolisme oxydatif, non sporulé, en forme de bâtonnet de 1,5 à 3,0 µm de longueur, mobile grâce à un flagelle polaire généralement unique, capable de se développer sur les milieux usuels à une température de croissance comprise entre 30°C à 37°C. Cette bactérie possède de nombreuses voies métaboliques et des gènes régulateurs qui la rendent extrêmement adaptable à différentes conditions de croissance. Elle est très difficile à éliminer des personnes infectées en raison de sa polyvalence nutritionnelle, de son nombre élevé de facteurs de virulence et de sa résistance élevée aux antibiotiques, notamment des infections pulmonaires des patients atteints de mucoviscidose (Floret et al., 2009 ; Weihui et al, 2015).

### 1.2.1. Classification

Selon SFM (2019) (Tableau 04), l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* a été classée comme suit :

**Tableau 4:** Classification de *Pseudomonas aeruginosa* (SFM, 2019).

<b>Domaine</b>	<i>Bacteria</i>
<b>Phylum</b>	<i>Proteobacteria</i>
<b>Classe</b>	<i>Gammaproteobacteria</i>
<b>Ordre</b>	<i>Pseudomonadales</i>
<b>Famille</b>	<i>Pseudomonaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Pseudomonas</i>
<b>Espèce</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

### 1.2.2. Habitat

Les espèces bactériennes *P. aeruginosa* sont présentes partout, tout comme toutes les espèces du genre *Pseudomonas* ou leurs proches. Ces bactéries ne nécessitent pas beaucoup de nutriments et peuvent survivre dans différents environnements (eaux, air, aliments) et surtout en milieu humide : le sol, les lacs, les cours d'eau et l'eau contaminée (Denis et Marie, 2013 ; Benelmili, 2021).

### 1.3 *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques dorés, également connus sous le nom de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), sont des cocci à Gram positif, qui se regroupent en amas formant des grappes de raisin. Ils sont immobiles et non sporulés. Ils peuvent se développer dans jusqu'à 10 % de sel, de manière aérobie ou anaérobie (optionnel) et à des températures allant de 18C° à 40C°. Les colonies sont souvent dorées ou jaunes (*aureus* signifie doré ou jaune) (**Benzeggouta, 2005 ; Taylor et Unakal, 2022**).

#### 1.3.1 Classification

D'après **Schleifer et Belln (2010)**, *Staphylococcus aureus* est classée selon le **tableau 05** comme suit :

**Tableau 5:** Classification de *Staphylococcus aureus* (**Schleifer et Belln, 2010**).

<b>Domaine</b>	<i>Bacteria</i>
<b>Phylum</b>	<i>Firmicutes</i>
<b>Classe</b>	<i>Bacilli</i>
<b>Ordre</b>	<i>Bacillales</i>
<b>Famille</b>	<i>Staphylococcaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>

#### 1.3.2 Habitat

*S. aureus* se rencontre partout dans l'environnement et chez les animaux, Après la naissance, *S. aureus* se développe sur la peau, l'ombilic, le tube digestif et le périnée du nourrisson. Cette colonisation varie jusqu'à 6 ans où elle est considérée comme étant représentative du portage. A l'âge adulte, *S. aureus* se trouve principalement dans les zones cutanées humides, et il colonise principalement les muqueuses des fosses nasales et de l'oropharynx, ainsi que le périnée. La peau, notamment celle des mains, est fréquemment envahie. Le portage nasal est fréquent entre 20 et 30% de la population générale (**Durand, 2009**).

### 2. Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène des souches mentionnées ci –dessus est mentionné dans le **tableau 06** suivant :

**Tableau 6:** Pouvoir pathogène d'*E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*. (Emmanuelle et El Amari, 2004 ; Nauciel et Vildé, 2005 ; Shallcross, 2013 ; Rolland, 2015 ; Gomes et al., 2016. ; Khosravi et al., 2016 ; Pestrak et al., 2020).

	Pouvoir pathogène	Transmission
<i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Flore facultative non pathogène pouvant rarement causer des maladies chez les personnes en bonne santé.</li> <li>-Quelques souches d'<i>E. coli</i> ont acquis la capacité de causer des affections du système nerveux, gastro-intestinal (diarrhée), urinaire ou central, même chez les hôtes humains les plus résistants et chez les individus immunodéprimés.</li> </ul>	<p>Les infections par les souches pathogéniques se font majoritairement :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Par la voie fécale - orale et plus précisément suite à l'ingestion d'aliments ou d'eaux contaminées.</li> <li>-Par la consommation de viande crue ou pas assez cuite, notamment la viande hachée.</li> <li>-Le contact direct avec les fèces infectées des animaux.</li> </ul>
<i>P. aeruginosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Chez des individus immunodéprimés, elle peut être la cause de diverses infections cutanées et viscérales voire même de septicémie (risque d'infections nosocomiales mortelles) en raison de sa résistance aux agents antimicrobiens et aux facteurs immunitaires de l'hôte mais aussi en créant des biofilms.</li> <li>- Elles se retrouve en flore de transit sur la peau et les muqueuses et causes des surinfections de plaies ou brûlures.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Cela peut être causé par des éléments environnementaux, que ce soit directement ou par le biais d'équipements mal entretenus ou mal rincés à l'eau.</li> <li>-On peut également être contaminé par un sujet colonisé (la pression de choix des antibiotiques en milieu</li> </ul>

		hospitalier peut accroître le risque de colonisation.
<b><i>S. aureus</i></b>	<p>-La présence de <i>S. aureus</i> chez l'Homme entraîne de nombreuses infections, telles que des infections cutanées (impétigos, folliculites, furoncles, panaris) et des infections des muqueuses (conjonctivites, otites, salpingites, endométrites et pneumonies).</p> <p>-Différents facteurs de virulence et de pathogénicité (facteurs d'adhésion, toxines, enzymes) sont présents chez <i>S. aureus</i>, qui exerce son pouvoir pathogène en libérant une ou plusieurs toxines.</p> <p>-Les entérotoxines causent des infections alimentaires toxiques.</p>	<p>-En général, la transmission entre individus se fait par :</p> <p>-Contact direct (manu portage).</p> <p>-Contact indirect par les vêtements, la literie ou la nourriture.</p> <p>-Il peut y avoir une épidémie nosocomiale.</p>

### 3. Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques, naturelles ou synthétiques, qui ont une action spécifique sur les micro-organismes, bactéries ou protozoaires. Lorsque ces molécules peuvent tuer les bactéries, elles sont dites bactéricides. Elles peuvent également se limiter à empêcher leur prolifération ; elles sont alors dites bactériostatiques (**Aberkane, 2024**).

#### 3.1. Critères de classification

Les antibiotiques peuvent être classés selon :

- ✓ Leur mode d'action (action sur la membrane plasmique, l'acide nucléique, la paroi cellulaire, etc.)
- ✓ Leur spectre d'activité : contre les cocci à Gram positif, les cocci à Gram négatif, etc.
- ✓ L'origine moléculaire : naturelle, synthétique ou semi-synthétique.
- ✓ La structure chimique : actuellement utilisée pour classer les antibiotiques (**Soussy et al., 2000**).

### 3.2. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est la capacité d'une bactérie de continuer à croître ou à survivre en présence de l'antibiotique. Elle n'est pas un phénomène nouveau, car tous les micro-organismes ont une capacité inhérente à résister à certains antibiotiques. Cependant, son développement et sa propagation rapides constituent une préoccupation majeure en santé publique (Aberkane, 2024). On distingue deux types de résistances :

- ✓ **La résistance naturelle** : c'est l'ensemble des souches d'une espèce bactérienne qui existe avant l'utilisation des antibiotiques et dont la résistance à ces antibiotiques est héritée des chromosomes et est transmise de manière permanente aux cellules filles lors de la réplication bactérienne (Rougeaux, 2014).
- ✓ **La résistance acquise** : elle n'affecte qu'une partie des souches d'une espèce bactérienne habituellement sensible et survient après l'usage des antibiotiques. Un mécanisme de résistance nouveau peut être acquis à la suite d'une mutation sur le chromosome bactérien ou d'une information génétique provenant d'une bactérie déjà résistante (Rougeaux, 2014).

---

## **Chapitre N°4**

### ***Tribolium castaneum***

---

## 1 Généralités sur le genre *Tribolium*

*Tribolium* est un genre d'espèces de la superfamille des *Cucujoidae*, de la famille des *Tenebrionidae* et de la sous-famille des *Ulominae* qui sont très souvent associés aux denrées alimentaires. Ce genre compte cinq espèces, dont deux sont particulièrement significatives: *Tribolium confusum* et *Tribolium castaneum* (Aoues, 2018).

## 2. *Tribolium castaneum*

Le coléoptère rouge de la farine (*T. castaneum*) est une espèce d'insectes ravageurs courante qui a la capacité d'attaquer et d'infester les denrées alimentaires stockées, telles que la farine, le riz, la semoule et les graines de céréales, dans les entrepôts de dépôt. On le nomme également le petit ver de farine ou le ver brun de farine (Figure 04) (Clifford et Bostock, 2007).

Le nom de l'espèce *T. castaneum* vient du grec ; Tribolos qui signifie trois pointes, et du latin ; *castaneum* ou *castenea* par rapport à la couleur brune rougeâtre des fruits du châtaignier (Clifford et Bostock, 2007 ; Larousse, 2017).

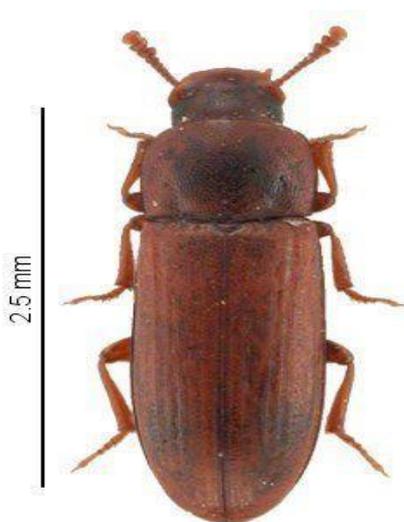


Figure 4: Adulte de *Tribolium castaneum* (Madjdoub, 2013).

## 2.1 Classification

D'après **Chenni (2016)** et selon le **tableau 07** ci-dessous, la classification de *T.castaneum* est comme suit :

**Tableau 7:** Position systématique de *T.castaneum*(Chenni, 2016).

<b>Règne</b>	<i>Animalia</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Arthropoda</i>
<b>Classe</b>	<i>Insecta</i>
<b>Ordre</b>	<i>Coleoptera</i>
<b>Genre</b>	<i>Tribolium</i>
<b>Espèce</b>	<i>Tribolium castaneum</i>

## 2.2 Différents stades de développement

L'insecte a une durée de vie de 2 à 8 mois dans des conditions favorables. Les œufs sont déposés en vrac sur les graines de céréales par la femelle. Les larves sont mobiles et se nourrissent et passent de 5 à 11 mues. À la fin du dernier stade larvaire, les larves s'arrêtent, cessent de se nourrir et se transforment en nymphes blanchâtres statiques. L'adulte sort de la nymphe (**Figure 05**). Les larves se déplacent librement à l'intérieur des denrées infestées et s'y développent sans avoir besoin de cocon (**Gueye et al., 2015**).

### ✓ Oeufs

Les œufs sont blanchâtres, microscopiques (0,61 mm de long et 0,3 mm de largeur) et cylindrique (**Figure 05**) avec des restes de particules de farine adhérant à la surface à l'aide de substance collante. La période d'œufs dure environ 5-9 jours.

### ✓ Larves

Les larves sont minuscules, 4-5 mm de longueur, cylindriques, minces, blanc brunâtre, avec des mangeoires actives et bien sclérosées à pleine maturité (**Figure 05**). La phase larvaire comprend six à sept. La durée de la phase larvaire varie selon la disponibilité, le type et la qualité de la nourriture, la température et l'humidité relative. Elle nécessite 12-13 jours avec une moyenne de 12,9 jours pour être complète (**Red Flour et al., 2023**).

✓ **Nymphes**

La nymphe est blanche et nue, avec un abdomen composé de lames rectangulaires avec des bords crantés sur les côtés (**Figure 05**). Les nymphes traversent une phase nymphale pendant laquelle leur couleur blanche initiale s'obscurcit progressivement jusqu'à leur épanouissement adulte. C'est un processus qui dure entre 9 et 17 jours (**Gueye et al., 2015 ; Ncibi, 2020**).

✓ **Adultes**

La longueur des adultes de *T. castaneum* est de 3-4 mm de long et tous sont d'un brun rougeâtre. Ils ont une forme étroite, allongée, avec des bords parallèles. La face supérieure de la tête et de la poitrine est perforée de petites ouvertures. En toute leur longueur, les ailes et les élytres sont rayées. Elle présente des antennes un peu enflées et des yeux rouges. En général, la poitrine présente des bords tranchants. L'abdomen est terminé par deux épines (**Figure 05**) (**Christine, 2001**).

*T. castaneum* présente un dimorphisme sexuel aussi bien au stade nymphal qu'au stade adulte, mais il est plus facile de distinguer les sexes chez les nymphes (pupes) (**Figure 06**) que chez les adultes (**Cheikh, 2019**).

**2.3. Facteurs de développement**

Selon **Robinson (2005)**, la température et l'humidité sont les principaux facteurs qui influencent le phénomène biologique de *Tribolium castaneum*, mais aussi d'autres éléments tels que les champignons et la prédation. La croissance est limitée par les variations de température: la température la plus basse est entre 22-22,5 °C et la température la plus élevée est entre 37,5-40 °C.

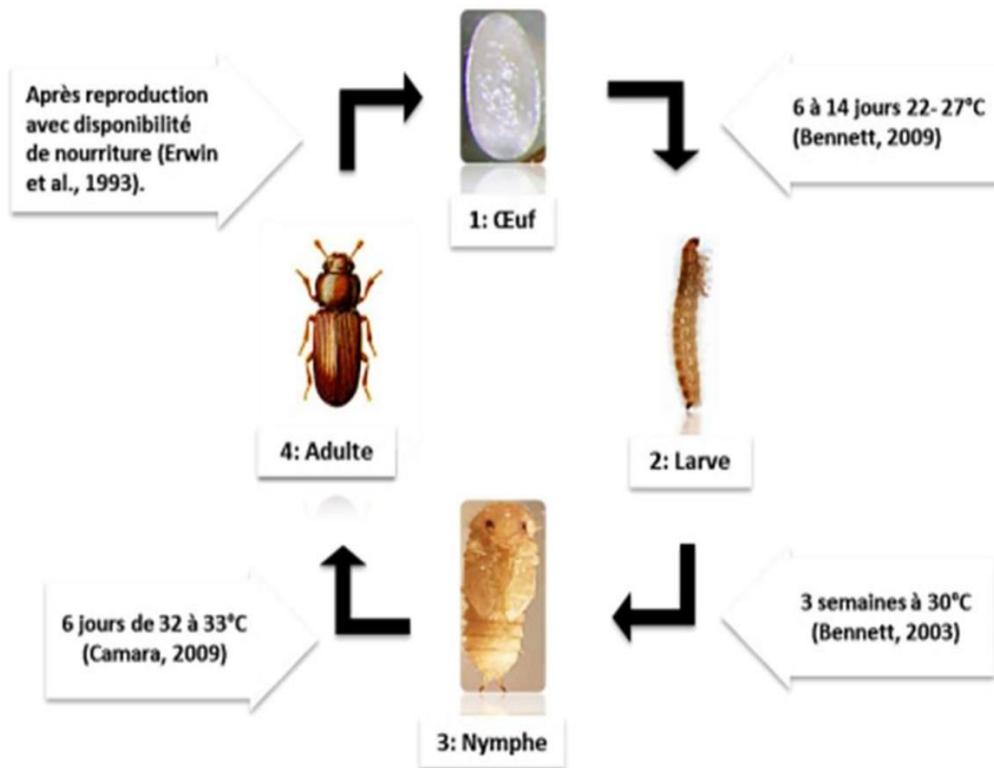


Figure 5: Cycle de développement de *T. castaneum*. (Cheikh, 2019)

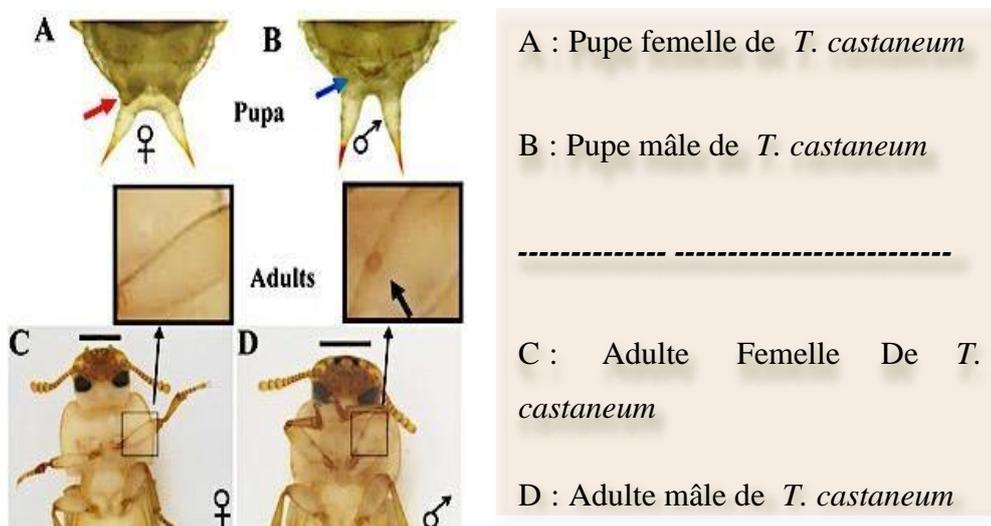


Figure 6: Dimorphismes sexuels au stade puppe et adulte de *T. castaneum* (Cheikh, 2019)

## 2.4. Répartition géographique

*Tribolium castaneum* est aujourd'hui tellement cosmopolite et commensal de l'homme que son origine est incertaine. Il serait originaire de zones d'Asie méridionale où le climat est chaud et sec et aussi originaire d'Indo-Australie et se rencontre dans des régions tempérées, mais il peut survivre l'hiver dans des zones protégées, surtout où il y a de la chaleur centrale. Cette espèce est répandue dans le monde grâce aux échanges commerciaux (**Karahacane, 2015 ; Aoues, 2018**).

## 2.5. Moyens de lutte contre *T. castaneum*

### 2.5.1. Lutte chimique

Les agriculteurs font usage d'une variété de substances chimiques synthétiques avec un fort pouvoir insecticide. Néanmoins, il est important de souligner que ces produits sont rémanents et ont une toxicité élevée pour la santé humaine et l'environnement, ce qui nécessite une utilisation prudente afin de réduire les risques qu'ils peuvent représenter pour les consommateurs qui les utilisent. Les grains, les emballages et les compartiments de stockage sont recouverts de ces substances. Les insecticides qu'ils utilisent sont classés en différentes catégories, tels que les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes. Afin de détruire les œufs, les larves et les pupes qui se développent dans les grains de céréales, un des procédés les plus utilisés est la fumigation en utilisant des gaz toxiques appelés fumigants (**Bokobana et al., 2014 ; Aidani, 2015 ; Nadio et al., 2015**).

### 2.5.2. Lutte biologique

Le principe de ce genre de lutte est principalement basé sur l'emploi de parasites et de prédateurs comme agents de lutte contre les insectes. Un travail a été entrepris pour créer de nouvelles substances afin de substituer les substances couramment employées. En utilisant des matières premières renouvelables d'origine végétale pour la fabrication de biopesticides, pour répondre à la situation sanitaire et environnementale (**Messaoudene et Mouhou, 2017**).

### 2.5.3. Lutte physique

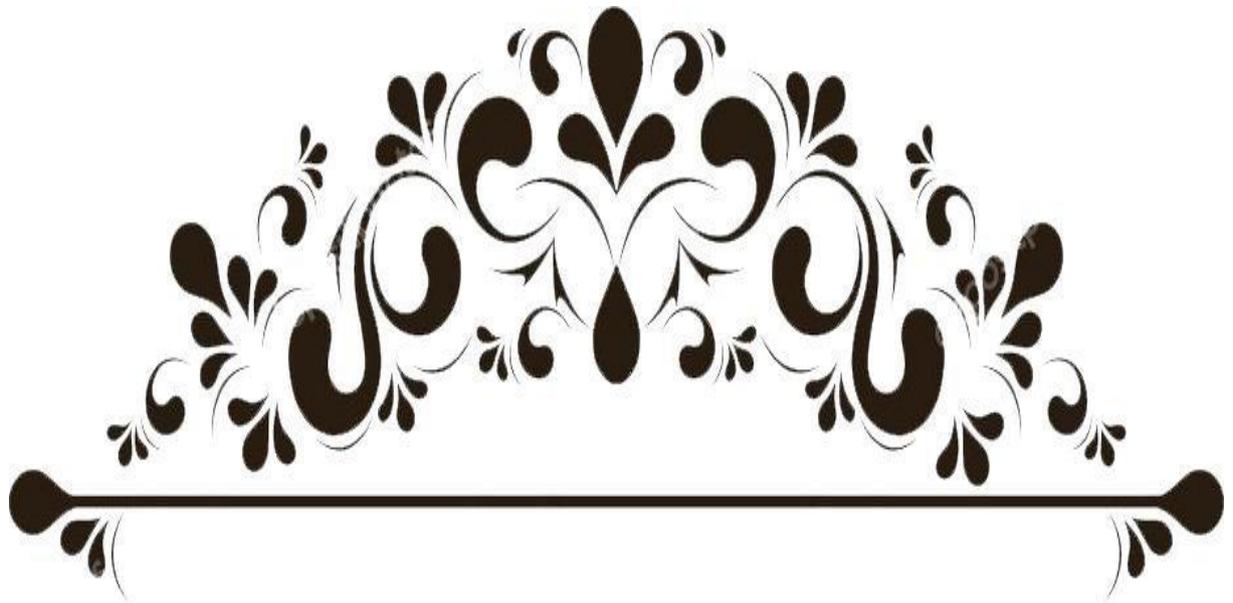
Son domaine d'application englobe toutes les méthodes mécano-thérapeutiques qui peuvent rétablir la santé du stock. Ces techniques n'ont généralement pas d'effet sur les formes dissimulées des insectes. On les recommande afin de remédier aux problèmes causés par les divers traitements chimiques utilisés sur les denrées stockées. Plusieurs méthodes ont donc été testées et ont rencontré des résultats variés : le traitement par le froid (températures basses) et

le chaud (températures élevées), le stockage étanche ou sous atmosphère contrôlée, ainsi que les radiations ionisantes. La faible température diminue le développement des insectes, leur consommation d'aliments, leur reproduction et leur survie. Les insectes ne se développent pas en dessous de 10°C. La température idéale pour la reproduction et le développement de la majorité des insectes se situe entre 25 et 33 °C (Benayad, 2013 ; Arab, 2018).

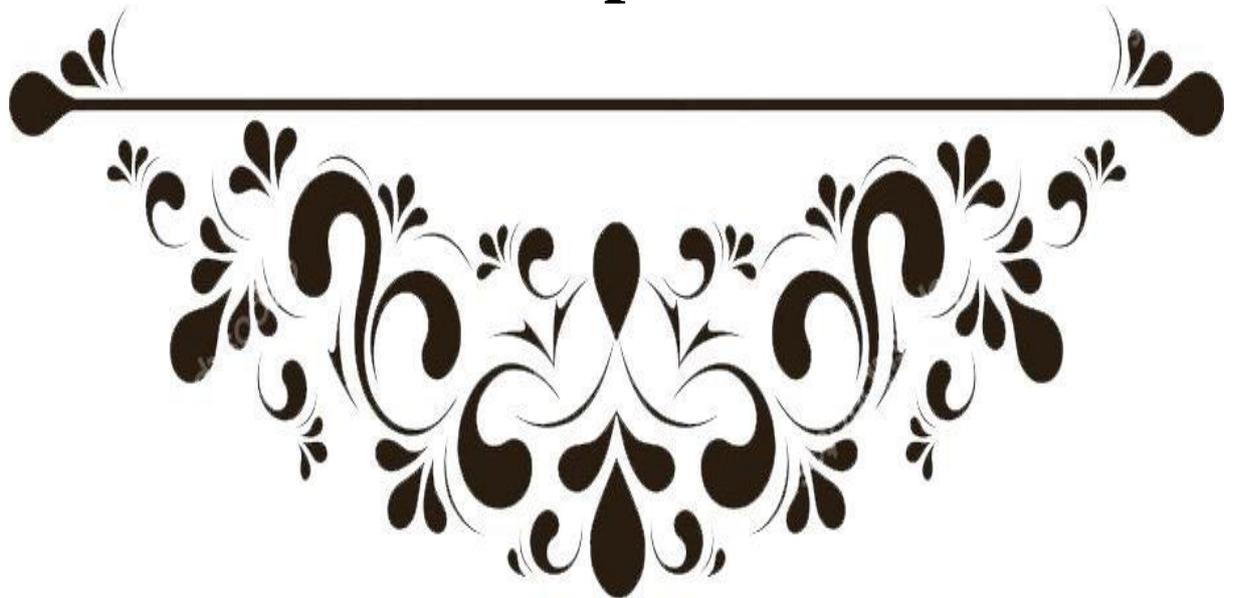
#### **2.5.4. Lutte préventive**

D'après Taruvinga et al (2014), les étapes suivantes sont mises en place pour accomplir cette tâche :

- Nettoyage et séchage des céréales et des stocks.
- Vérification de la température et de l'humidité avant et après la mise en conserve des céréales
- Stockage de céréales en vrac
- Enfin, vérification régulière de la détérioration du grain.



**Deuxième partie**  
**Etude expérimentale**



---

# **Chapitre N°01**

## **Matériel et méthodes**

---

Cette étude vise à évaluer *in vitro* le potentiel antioxydant des différents extraits utilisés des feuilles de *Rubus fruticosus* (extrait méthanolique, éthanolique et aqueux). Nous avons également évalué l'effet antibactérien de différentes doses de ces derniers, sur trois souches référencées, potentiellement pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et leur effet insecticide sur un insecte des denrées stockées (*Tribolium castaneum*).

Notre travail expérimental a été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie, de microbiologie et au niveau 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.

## 1. Matériel

### 1.1. Matériel biologique

#### 1.1.1. Matériel végétal

Dans cette étude, nous avons utilisé des feuilles de *Rubus fruticosus*, qui ont été collectées en février 2024 dans la région Boumahra Ahmed de la ville de Guelma.

#### 1.1.2. Souches bactériennes testées

Dans le présent travail nous avons utilisé 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 08** présente les différentes références des souches bactériennes testées.

**Tableau 8:** Références des souches bactériennes étudiées

Souche	Référence
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25322
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25922

#### 1.1.3. Insecte testé

Afin d'étudier l'activité insecticide de la plante, nous avons utilisés des adultes de *Tribolium castaneum*. Ils proviennent d'un élevage de masse sur une farine de blé conservée dans

une étuve à une température d'environ 30°C et dans un environnement humide. On infeste régulièrement de nouvelles quantités de cette farine afin de garantir la continuité de l'élevage.

## **1.2. Milieux de culture**

Nous avons utilisé plusieurs milieux de culture : le bouillon nutritif, la gélose nutritive, la gélose Mueller Hinton, la Gélose Chapman, la Gélose de Macconkey, le bouillon Mueller Hinton

## **2.Méthodes**

### **2.1. Préparation du matériel végétal**

Le matériel végétal a été préparé de la manière suivante :

#### **2.1.1. Préparation de la poudre de plante**

Après la récolte, le matériel végétal a été tout d'abord lavé à l'eau pour enlever la poussière et séché à l'air libre et à l'ombre pendant une semaine. Par la suite, il a été transformé en poudre à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue est mélangée et conservée dans des boîtes stériles à l'abri de la lumière pour éviter la dégradation de ses principes actifs afin d'être utilisée pour des préparations et tests ultérieurs.

#### **2.1.2. Préparation des extraits**

##### **✓ Extrait aqueux**

On a ajouté à 100g de poudre provenant des feuilles de la plante étudiée, 1 L d'eau distillée. Le mélange a été chauffé pendant 15 minutes. Une fois refroidi, la filtration a été réalisée en utilisant un papier Whatman N 01. Le filtrat a été par la suite, séché dans une étuve à une température de 45°C. Finalement, on a conservé la poudre obtenue ou le décocté aqueux à l'abri de la lumière dans un flacon stérile et sec à une température de 4°C. (**Aouinty et al., 2006**).

##### **✓ Extrait méthanolique**

On a macéré 2,5g de poudre des feuilles de plante dans 25ml de méthanol absolu pendant 30 minutes en utilisant une agitation magnétique. La préparation obtenue a été conservée à une température de 4°C pendant 24 heures, puis filtrée. Le solvant du filtrat a été ensuite évaporé à sec, à une température réduite à 45°C, en utilisant un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R 215) (**Falleh et al., 2008**).

### ✓ **Extrait éthanolique**

Pour préparer l'extrait, il faut utiliser 50 grammes de poudre obtenue à partir des feuilles. Pendant 24 heures, ils ont été macérés dans 500 ml d'éthanol pur en agitation continue. On a filtré le macérât obtenu, puis on l'a séché à l'étuve à une température de 40°C. L'échantillon sec obtenu a formé l'échantillon éthanolique et a été stocké dans l'obscurité à une température de 4 °C pour les expérimentations (Gbogbo *et al.*, 2022).

## **2.2. Calcul du rendement d'extraction**

L'efficacité de l'extraction correspond à la proportion entre le poids de l'extrait obtenu et le poids initial de la plante utilisée. La formule suivante permet de calculer le rendement en pourcentage :

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

**R** : le rendement en %.

**m** : la masse de l'extrait obtenu.

**m<sub>0</sub>** : la masse initiale de la plante (poudre des feuilles de la plante)

## **2.3. Screening phytochimique (Tests préliminaires de la composition chimique)**

Plusieurs tests sont utilisés pour l'identification des principaux groupes de principes actifs de la plante étudiée.

### **2.3.1. Au niveau de la poudre de plante**

#### ✓ **Alcaloïdes**

On ajoute 10g de poudre de plante à quelques millilitres d'HCL à 1 % dans un récipient. Le mélange est filtré avec un papier filtre, après une demi-heure de macération. On ajoute quelques gouttes de réactif de Mayer à la solution filtrée (5g de KI + 1,358g de HgCl<sub>2</sub> solubilisés dans 100 ml d'eau distillée). Un précipité de couleur blanche jaunâtre signale la présence des alcaloïdes (Dohou *et al.*, 2003).

**✓ Flavonoïdes**

En ajoutant 150 ml d'HCl à 1%, à 10g de poudre sèche, le mélange est laissé pendant une nuit, puis filtré. L'ajout du NH<sub>4</sub>OH rend 10 ml du filtrat basique. On constate un test positif par l'apparition d'une teinte jaune- orangé (**Okmu, 2005**).

**✓ Tanins**

Une solution hydro-alcoolique de C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH est utilisée pour extraire 10g de la plante sèche, puis le mélange est filtré. Une solution de FeCl<sub>3</sub> est ajoutée au filtrat. Le développement d'une teinte verte confirme la présence de tanins (**Karumi et al., 2004**).

**✓ Saponosides**

On ajoute 2g de poudre dans une fiole jaugée contenant 80 ml d'eau distillée bouillante. On maintient une ébullition modérée pendant 30 minutes ; ensuite, on filtre le mélange. Une fois refroidi, le filtrat est agité de manière verticale. La présence de saponosides est signalée par la formation de mousse (**Karumi et al., 2004**).

**✓ Stérols et les terpènes**

Dans 210 ml d'éther de pétrole, on dissout 5g de poudre, puis on filtre le mélange avant de l'évaporer. La substance finale est dissoute dans 0,5 ml d'acide acétique puis dans 0,5 ml de CHCl<sub>3</sub>. Ensuite, on ajoute 1 ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré à cela. Les stérols terpéniques sont présents quand il y'a formation d'un cercle marron ou violet (**Dohou et al., 2003**).

**2.3.2. Au niveau des extraits****✓ Alcaloïdes**

Il y a deux méthodes pour identifier les alcaloïdes. Les réactions de précipitation sont effectuées soit avec le réactif de Mayer, soit avec celui de Wagner. On divise 1 ml de l'extrait en deux volumes égaux. On traite un volume avec 0,5 ml de réactif de Mayer et l'autre volume avec 0.5 ml de réactif de Wagner. Lorsqu'un précipité blanc se forme avec le premier réactif ou brun avec le deuxième réactif, cela indique la présence des alcaloïdes (**Haoulia, 2015**).

Les deux réactifs sont préparés comme suit :

- **Réactif de Mayer** : 5g de KI et 1.35g de HgCl<sub>2</sub> sont solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.

- **Réactif de Wagner** : 2g de KI et 1.27g de I<sub>2</sub> dans 75ml d'eau distillée, le volume est ajusté à 100 ml.

- ✓ **Flavonoïdes**

Ajouter quelques gouttes d'HCL concentré à 5 ml de l'extrait. Ajouter une petite quantité de magnésium en tournures (laisser agir). Un test positif se manifeste par la présence d'une teinte rouge ou rose (**Edeogal et al., 2005**).

- ✓ **Tanins**

Établir une solution à tester de 1 ml avec 2 ml d'H<sub>2</sub>O et ajouter 2 à 3 gouttes de FeCl<sub>3</sub> (2 %). Les tanins sont présents lorsque la couleur est verdâtre ou bleu-noir (**Edeogal et al., 2005**).

- ✓ **Saponosides**

Mettre 10 ml de l'extrait dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau distillée. Laisser agir pendant 2 minutes. Après 15 minutes de repos, une mousse persistante est formée, ce qui confirme la présence des saponosides (**Karumi et al., 2004**).

- ✓ **Mucilages**

On ajoute 5 ml d'alcool absolu (éthanol à 95%) à 1 ml de la solution à analyser. Les précipitations floconneuses indiquent la présence de mucilage (**Dohou et al., 2003**).

- ✓ **Stérols et Triterpènes**

Ajouter 5 ml de l'extrait à étudier dans un bécher, puis ajouter 5 ml d'anhydride acétique, 5 ml de chloroforme et 1 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré dans la paroi d'un bécher sans agitations. Restez à l'air 20 minutes. Un anneau rouge brunâtre apparaît à la zone de contact des deux liquides et la couche surnageante est colorée violette, ce qui indique la présence de stérols et de triterpènes (**Karumi et al., 2004**).

## 2.4. Evaluation des principes actifs dans les différents extraits préparés

### 2.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux

- ✓ **Principe**

Selon (**Li et al., 2007**), la méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour évaluer la quantité de composés phénoliques présents dans les trois extraits étudiés (extrait aqueux, méthanolique et éthanolique). Le réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune, utilisé dans cette méthode

colorimétrique est un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ).

#### ✓ Mode opératoire

On ajoute 1 ml de réactif de Folin (dilué 10 fois) à 200  $\mu$ l d'échantillon ou de standard (préparés dans du méthanol) en utilisant des dilutions appropriées. Au bout de 4 minutes, on ajoute 800  $\mu$ l d'une solution de carbonate de sodium (0,75%) au milieu réactionnel. Après une incubation de 2 heures à température ambiante, on évalue l'absorbance à 765nm (**Tableau 09**). On calcule la concentration totale des polyphénols en utilisant la droite d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200  $\mu$ g/ml) et on exprime cette concentration en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec de la plante étudiée (**Georgé et al., 2005**).

**Tableau 9:** Protocole de dosage des polyphénols totaux

Gamme d'étalonnage (acide gallique $\mu$ g/ml)										Les Extraits (1mg/ml)		
Blanc	0.25ml	0.5ml	0.75ml	1ml	1.25ml	1.5ml	1.75ml	2ml				
<b>Ajoutez du méthanol jusqu'à 2</b>												
<b>ml</b>												
<b>Mé- tha- nol</b>	2ml	1.75ml	1.5ml	1.25ml	1ml	0.75ml	0.5ml	0.25ml	0ml	<b>A</b> 2ml	<b>M</b> 2ml	<b>E</b> 2ml
<b>200<math>\mu</math>L de chaque échantillon + 1ml de folin + Après 4 min 800<math>\mu</math>l de carbonate sodium</b>												
<b>Avec l'agitation</b>												
<b>2h d'incubation à température ambiante</b>												
+												
<b>Lecture l'absorbance 765nm</b>												

**A** : extrait aqueux, **M** : extrait méthanolique et **E** : extrait éthanolique.

### 2.4.2. Dosage des flavonoïdes

#### ✓ Principe

On a effectué une évaluation quantitative des flavonoïdes présents dans les extraits en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Cette substance va créer un complexe de flavonoïdes d'aluminium avec une absorption maximale à 430nm (Bahorun *et al.*, 1996).

#### ✓ Mode opératoire

Les échantillons sont préparés en dissolvant 1 mg d'extrait dans 1 ml de méthanol. On ajoute 1 ml de chaque échantillon à 1 ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol). Dix minutes après le commencement de la réaction, on peut mesurer l'absorbance à une longueur d'onde de 430 nm. On établit une gamme étalon distincte avec de la quercétine (0-40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) afin de déterminer la concentration des flavonoïdes dans chaque extrait (Figure 07) (Bahorun *et al.*, 1996).

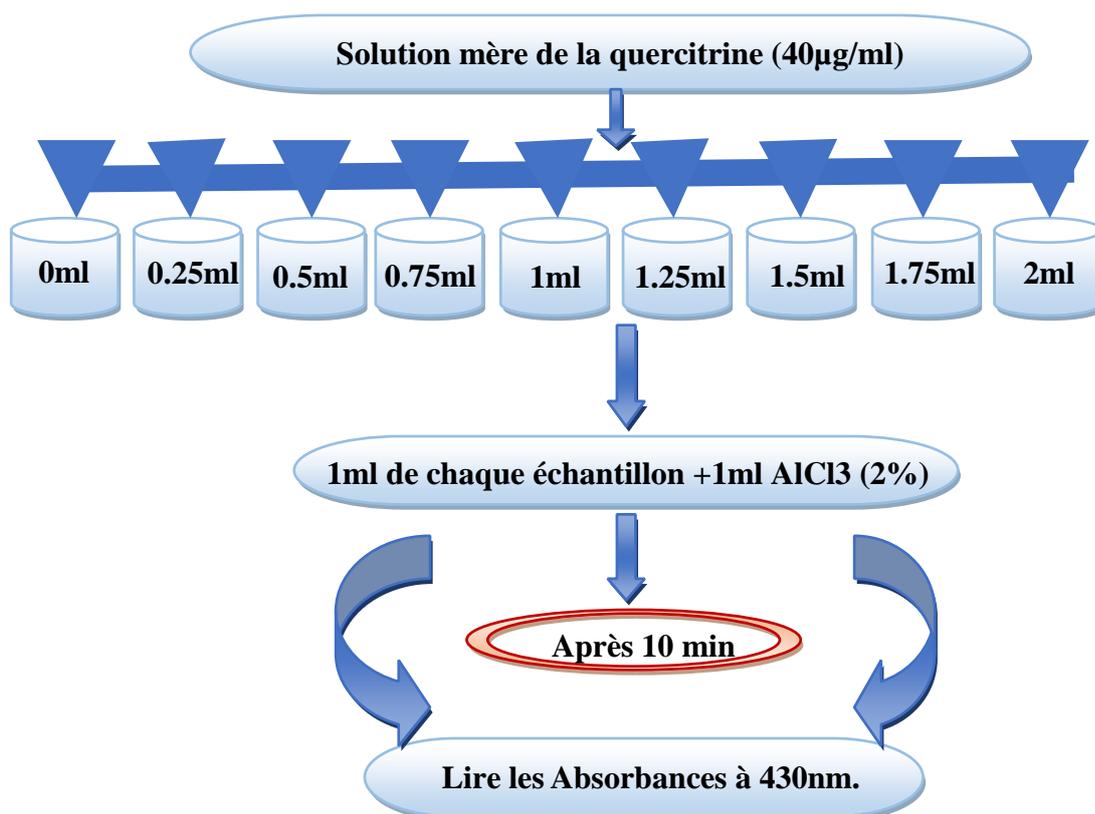


Figure 7: Protocole expérimental de dosage des flavonoïdes

### 2.4.3. Dosage des tanins

#### ✓ Principe

La quantité de tanins condensés a été calculée en utilisant la méthode mentionnée par **Julkunen-Titto (1985)**. Le taux de tanins condensés des extraits est évalué par colorimétrie à l'aide de la vanilline avec l'HCl. L'efficacité de cette méthode repose sur la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés et la formation de complexes rouges (**Makkar 2000 ; Schofield, 2001**). Cela est dû à la capacité des tanins à se transformer en anthocyanidols rouges en réaction avec la vanilline (**Sun et al., 1998**).

#### ✓ Mode opératoire

À 1,5 ml d'une solution de vanilline à 4% (préparée dans le méthanol), on a ajouté 0,5 ml de l'extrait. On agite vigoureusement le mélange résultant et on ajoute un volume de 750 µl d'HCl concentré. On laisse le mélange obtenu reposer à température ambiante pendant 20 minutes dans une chambre noire. On a évalué l'absorbance à une longueur d'onde de 500 nm en utilisant un blanc composé de la solution de 4% de vanilline. (**Tableau 10**) La concentration des tanins condensés est estimée en milligramme équivalents de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g) (**Sun et al., 1998**).

**Tableau 10:** Protocole de dosage des tanins

1,5 ml d'une solution de vanilline à 4%			
Ajouté 0,5 ml méthanol	Ajouté 0,5 ml de l'extrait		
Blanc	A	M	E
Ajoute un volume de 750 µl d'HCl concentré			
Incubation 20 minutes dans une chambre noire			
Lecture 550nm			

## 2.5 Evaluation du potentiel antioxydant des différents extraits par le test du piégeage du radical DPPH

### ✓ Principe

La méthode de DPPH ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyl, C<sub>18</sub> H<sub>12</sub> N<sub>5</sub> O<sub>6</sub>) a été choisie pour étudier l'activité anti-radicalaire des trois extraits étudiés. Le test repose sur l'évaluation de la capacité des antioxydants à se fixer sur le radical DPPH. En recevant un atome d'hydrogène des antioxydants, l'électron impair de l'atome d'azote dans le DPPH est réduit pour former l'hydrazine correspondante (**Kedare et Singh, 2011**).

Le DPPH est une substance radicalaire stable qui est sous forme de poudre noire. Il est soluble dans de l'éthanol ou du méthanol. Ce radical est un électron libre dans un atome de pont d'azote. Le déplacement de cet électron est responsable de la couleur bleue violette du réactif. Quand le DPPH interagit avec un antioxydant, le radical sera alors lié à un atome d'hydrogène. Cela provoque une diminution et un changement de couleur (en jaune). On peut mesurer cette perte de couleur à l'aide d'une mesure spectrophotométrique à 515-518 nm (**El Babili et al., 2020**).

### ✓ Mode opératoire

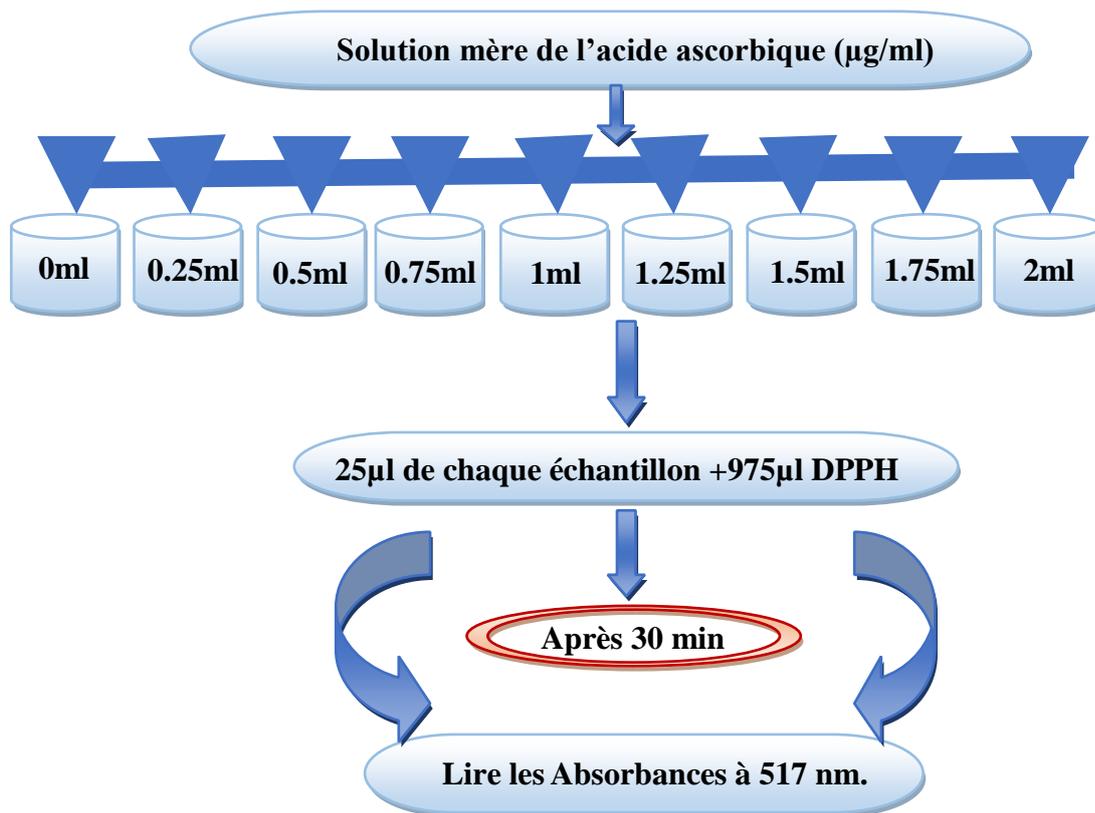
D'après **Mansouri et al. (2005)**, la méthode consiste à dissoudre 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol ( $6 \times 10^{-5}$  M). On ajoute 25  $\mu$ l d'extrait ou de solution standard (acide ascorbique) à 975  $\mu$ l de DPPH. On laisse le mélange dans l'obscurité pendant 30 minutes, puis on mesure la décoloration vis-à-vis du contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol à une longueur d'onde de 517 nm (**Figure 08**).

La mesure de l'absorbance est utilisée pour calculer les pourcentages d'inhibition du radical DPPH ( **$PI\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ extrait) / Abs\ contrôle] \times 100$** ) (**Mansouri et al., 2005**)

Afin d'évaluer l'effet antiradicalaire du DPPH, il est nécessaire de calculer le pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés qui permet de déterminer l'IC<sub>50</sub> de manière graphique (**Torres, 2006**).

### Calcul des IC<sub>50</sub>

L'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice de 50 %) est la concentration de l'échantillon requise pour réduire 50 % du radical DPPH, également appelée EC<sub>50</sub> (concentration efficace 50) (**Torres, 2006**).



**Figure 8:** Protocole expérimental de la méthode du Piégeage du DPPH

## 2.6 Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *Rubus fruticosus* et des antibiotiques

### 2.6.1 Antibiogramme par la méthode des disques par diffusion en milieu gélosé

L'antibiogramme par la méthode des disques est un test de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries, qui est utilisé pour évaluer les propriétés antibactériennes de chaque extrait et pour déterminer le meilleur antibiotique contre un germe nouveau ou résistant aux médicaments (Weli et al., 2020).

Cette méthode est utilisée pour tester les disques d'antibiotiques et les disques imbibés des différentes doses choisies des différents extraits de la plante étudiée.

#### ✓ Repiquage des espèces bactériennes

Les différentes espèces bactériennes référencées utilisées (*E coli*, *P.aeruginosa* et *S aureus*) ont été repiquées par stries dans leurs milieux sélectifs ou dans des tubes de gélose nutritive inclinée, puis elles ont été incubées à 37°C afin d'obtenir des colonies jeunes (moins de 24 heures) qui serviront à préparer l'inoculum (Dulger, 2004).

---

**✓ Préparation des suspensions bactériennes (inoculum)**

Des colonies bien isolées de chaque souche bactérienne testées sont ajoutées à 5 ml d'eau physiologique à l'aide de l'anse de platine. La suspension bactérienne doit être parfaitement homogène, avec une opacité équivalente à (0.5 Mc Farland) ou une DO comprise entre 0.08 et 0.10 à 625 nm. Il est possible d'ajuster l'inoculum en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible, soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop concentré (**Daouadji, 2010**)

**✓ Encensement**

L'ensemencement doit se faire au moins 15 min après la préparation sur milieu gélosé Muller-Hinton stérile. Il se fait par la méthode de **Kirby-Bauer (2004)**, par écouvillonnage selon les étapes suivantes :

- Faire couler le milieu MH prêt à l'emploi dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 4 mm et elle est répartie de manière homogène dans les boîtes. Avant d'être utilisées, il est nécessaire de les sécher pendant 30 minutes à une température ambiante du laboratoire (**Rota et al., 2008**).
- 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, en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois de 60° afin de s'assurer d'une bonne distribution de l'inoculum.
- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 min.

**✓ Application des disques d'antibiotiques**

En utilisant une pince stérile, placer les disques d'antibiotiques sur la boîte de pétri en appuyant légèrement. Assurez-vous de ne pas faire chauffer les disques avec une pince flambée. Il est recommandé de ne pas ajouter plus de 6 disques d'antibiotiques à une boîte de diamètre de 90 mm. Il est impossible de déplacer un disque appliqué. Il est nécessaire que les disques soient séparés d'environ 30 mm. Ensuite, on incube les boîtes à l'étuve à une température de 37°C pendant 24 heures.

**Nb :** deux types d'antibiotiques ont été employés dans l'antibiogramme (**voir Tableau**).

**Tableau 11:** Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme (Chanda, 2007).

<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Gentamicine	Gentamicine	Gentamicine
Amoxicilline	Vancomycine	Chloramphénicol

#### ✓ Préparation des disques imbibés des différentes doses de l'extrait

L'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* est préparé dans l'eau désilée, tandis que les autres extraits (méthanolique et éthanolique) sont préparés dans du DMSO à 10%. Ces trois types d'extraits sont préparés à des concentrations variées (10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml) (Rajeshwari et al., 2010)

Avant de tester les disques imbibés des différentes doses des différents extraits de la plante, sur les bactéries choisies, nous devons tout d'abord les stériliser. Ces disques de papier Whatman 3 de 6 mm de diamètre doivent être mis donc à l'étuve, à 140 ° pendant 40 minutes. Par la suite ils seront imbibés de 20 µl d'extraits de plante et déposés aseptiquement à l'aide d'une pince stérile sur la surface du milieu de culture.

#### Lecture

L'activité antibactérienne des différents extraits et antibiotiques est calculée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (zone où aucune croissance bactérienne n'est observée autour du disque) par un pied de coulisse ou une règle en mm. Cette mesure est réalisée après 24 heures d'incubation à 37°C. Selon Hamidi (2013), la sensibilité des souches à l'égard des extraits est considérée comme suit :

- **Souche non sensible (-) ou résistante** : diamètre <8mm.
- **Souche sensible (+)** : diamètre compris entre 9 à 14mm.
- **Souche très sensible (++)** : diamètre compris entre 15 à 19mm.
- **Souche Extrêmement sensible (+++)** : >20mm

#### 2.6.2 Détermination des paramètres antibactériens CMI et CMB

##### ✓ 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 chaque culture bactérienne a été prélevée à l'aide d'une

anse de platine et homogénéisée dans 10 ml du bouillon puis incubée pendant 3 à 5 h à 37 °C pour avoir une préculture. Un volume de 1 ml pour les *Pseudomonas*, les trois souches 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 100 ou le l'inoculum pur (Toty et al., 2013).

#### ✓ Numération de l'inoculum

La numération de l'inoculum a été réalisée par une dilution au 10<sup>ème</sup> 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 de platine par ensemencement sur la surface de la gélose Mueller Hinton puis incubés à 37 °C pendant 24 h. Cette préparation constitue la boîte A (Toty et al., 2013).

#### ✓ Préparation de la gamme de concentration des extraits végétaux

Dans huit tubes à essais numérotés de 1 à 8, la concentration de l'extrait végétal a été préparé en utilisant la méthode de double dilution, en suivant une progression géométrique de raison 1/2.

#### ✓ Inoculation

Dans une série de huit tubes à hémolyse numérotées de C1 à C8, nous avons introduit 1ml de l'inoculum pur. Ensuite, nous avons 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)

### 2.6.2.1 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La CMI correspond à la plus faible concentration d'une substance potentiellement antibactérienne empêchant la croissance des bactéries. À cette concentration et après une incubation de 18 à 24 heures, aucune croissance n'est visible à l'œil nu (Toty et al., 2013)

### 2.6.2.2 Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La CMB est la substance avec la plus petite concentration, laissant un très faible pourcentage de germes vivants (0,01%). En utilisant une anse calibrée à 2 µl, on prélève les contenus

des tubes utilisés pour la CMI où aucune croissance bactérienne n'a été détectée et on les ensemence sur une gélose Mueller-Hinton en commençant par le tube de la CMI. Les stries parallèles de 5 cm de long ont été utilisées pour l'ensemencement à la surface de la gélose (Boîte B). Le nombre de colonies sur les stries a été comparé à celui de la boîte de numération de l'inoculum (Boîte A), après 24 heures d'incubation à l'étuve à 37 °C. Par conséquent, le tube expérimental initial dont le nombre de germes sur stries est inférieur ou égal à celui de la dilution 10<sup>-4</sup> sera considéré comme la CMB (Toty et al., 2013).

## 2.7. Etude de l'activité insecticide des extraits de *Rubus fruticosus*

L'activité bio-insecticide a été évaluée en testant différentes doses des différents extraits de *Rubus fruticosus* sur des adultes de *Tribolium castaneum*.

D'après Benazzeddine (2010), la mortalité est un indicateur de l'efficacité d'un produit. Le nombre de d'insectes morts dans une population traitée par un produit toxique ne correspond pas au nombre réel d'individus tués par ce toxique. En réalité, il y a une mortalité naturelle dans toute population traitée, qui s'ajoute à la mortalité causée par la substance testée. Les pourcentages de mortalité doivent être ajustés en utilisant la formule d'Abbott :

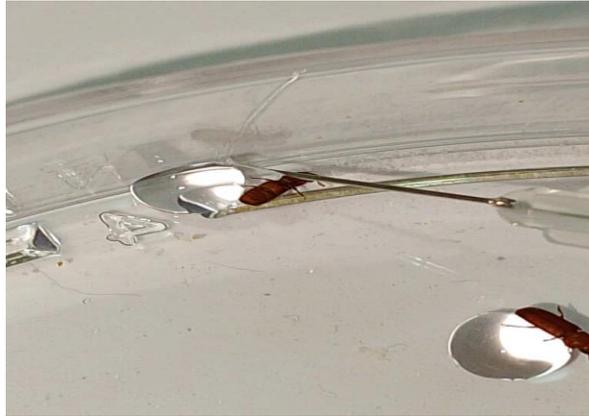
### Formule d'Abbott :

**Mortalité corrigée (%)** = (Mortalité dans le groupe traité – Mortalité dans le groupe témoin/100- Mortalité dans le groupe témoin) ×100

### 2.7.1. Traitement par application topique sur *T. castaneum*

Les trois différents extraits utilisés (aqueux, méthanolique et éthanolique) ont été testés par application topique (Figure 09) sur la partie abdominale (ventrale) des adultes de *T. castaneum* à différentes doses.

Les différents extraits de *Rubus fruticosus* ont été dilués dans de l'eau distillée à des concentrations différentes (0,07, 0.15, 0.31, 0.62, 1.25, 2,5, 5, 10, 20 et 40mg/ml). Ces doses ont été sélectionnées à partir de tests préalables. Ils sont placés dans des boîtes de pétri de 10 insectes chacune. Des trois extraits utilisés, 2µl de chaque concentration ont été prélevés à l'aide d'une seringue d'insuline et appliqués aux insectes (ce protocole a été répété à 3 reprises) (Figure 09). À la place des différentes doses de différents extraits, les insectes -témoins ont reçus 2µl d'eau distillée au niveau de leur partie ventrale. (Hami et al., 2005 ; Djidel et al., 2018)



**Figure 9:** Traitement par application topique sur *T. castaneum* (Photo personnelle, 2024)

---

# **Chapitre N°02**

## **Résultats et discussion**

---

## 1. Calcul du Rendement des différents extraits

Le **tableau 12** montre les différents rendements d'extraction des différents extraits utilisés de *Rubus fruticosus*.

**Tableau 12:** Rendements des extraits

Les extraits	Poids de la poudre de plante	Poids de l'extrait	Rendement
Aqueux	50g	7.5g	13%
Méthanolique	50g	8.27g	16.54%
Éthanolique	50g	4.69g	9.38%

Selon les données du **tableau 12** ci-dessus, à partir de 50g de poudre de plante, nous avons constaté que le rendement de l'extrait méthanolique estimé à 16,54% a été le plus élevé suivi de l'extrait aqueux qui a obtenu 13 % de rendement et enfin de l'extrait éthanolique qui a obtenu le plus faible des rendements qui est estimé à 9,38%. Les rendements diffèrent en effet en fonction de l'espèce végétale utilisée, du type de solvant utilisé et de la méthode d'extraction (Lee et al., 2003).

## 2. Tests phytochimiques

Les analyses phytochimiques effectuées sur la poudre et les trois extraits préparés à partir des feuilles de *Rubus fruticosus* (aqueux, méthanolique et éthanolique) sont représentés dans les **tableaux (13, 14, 15 et 16)** ci-dessous.

**Tableau 13:** Tests phytochimiques appliqués à la poudre de plante

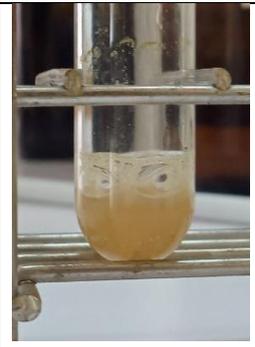
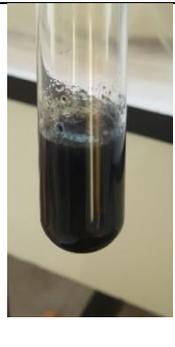
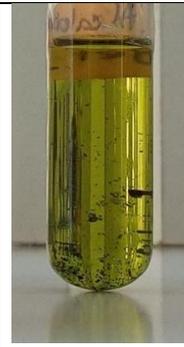
Alcaloïdes	Flavonoïdes	Tanins	Saponosides	Stérols et Terpènes
-	++	++	++	++
				

+ : faiblement présent, ++ : fortement présent - : absent

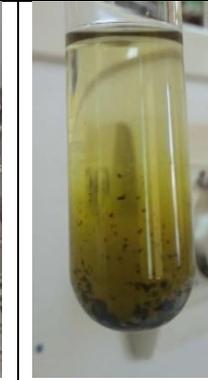
Tableau 14: Tests phytochimiques appliqués à l'extrait aqueux

Alcaloïdes	Flavonoïdes	Tanins	Saponosides	Stérols et Terpènes	Mucilages
-	++	++	++	-	++
					

Tableau 15: Tests phytochimiques appliqués à l'extrait méthanolique

Alcaloïdes	Flavonoïdes	Tanins	Saponoside	Stérols et Terpènes	Mucilages
-	++	++	++	++	++
					

**Tableau 16:** Tests phytochimiques appliqués à l'extrait éthanolique.

Alcaloïdes	Flavonoïdes	Tanins	Saponosides	Stérols et Terpènes	Mucilages
-	+	++	-	-	++
					

Les résultats représentés dans les **tableaux (13, 14, 15 et 16)** révèlent l'absence des alcaloïdes dans la poudre et tous les extraits de la ronce utilisés dans l'étude (aqueux, méthanolique et éthanolique). Ce résultat concorde avec celui d'**Afif Chaouche et al. (2015)**. Contrairement à **Rameshwar et al. (2014)** qui a révélé quant à lui, la présence de ces principes actifs au niveau de la même plante.

Nous avons remarqué avec intérêt que l'extrait aqueux (**voir Tableau 14**) renferme tous les principes actifs trouvés dans la poudre de plante (**voir Tableau 13**) : flavonoïdes, tanins, saponosides et mucilages. Cependant nous avons remarqué l'absence des stérols et terpènes.

L'extrait méthanolique (**Voir Tableau 15**) quant à lui possède tous les principes actifs retrouvés dans la poudre de plante (**Voir Tableau 13**) : flavonoïdes, tanins, saponosides, stérols et terpènes ainsi que les mucilages.

Nous avons remarqué également que l'extrait éthanolique (**Voir Tableau 16**) renferme tous les principes actifs retrouvés dans la poudre (**Voir Tableau 13**) de plante mis à part les stérols et terpènes ainsi que les saponosides. La différence des principes actifs d'un extrait à l'autre peut être expliquée par la différence de solubilité de ces métabolites secondaires dans les différents solvants (eau, méthanol et éthanol).

D'une façon générale *Rubus fruticosus* de la région de Boumahra -Wilaya de Guelma renferme plusieurs principes actifs tels que les flavonoïdes, tanins, saponosides, stérols et terpènes ainsi que les mucilages. Cette composition en métabolites secondaires varie d'une région

à une autre. Elle change également selon le climat, la période de cueillette, la saison etc (Seifi et al., 2023). En effet selon les études réalisées par Affif Chaouche et al. (2015) la composition chimique de *Rubus fruticosus* de la région de Tizi Ouzou cueillie au printemps, renferme en plus des métabolites qu'on a décelés d'autres substances telles que : les coumarines. Rameshwar et al. (2014) ont collectés plusieurs informations sur la composition chimique des *Rubus fruticosus* de la région du nord de l'Europe et ont décelés d'autres métabolites telles que : les anthocyanes, les huiles essentielles, l'acide ascorbique et d'autres acides organiques.

### 3. Evaluation des principes actifs dans les différents extraits préparés

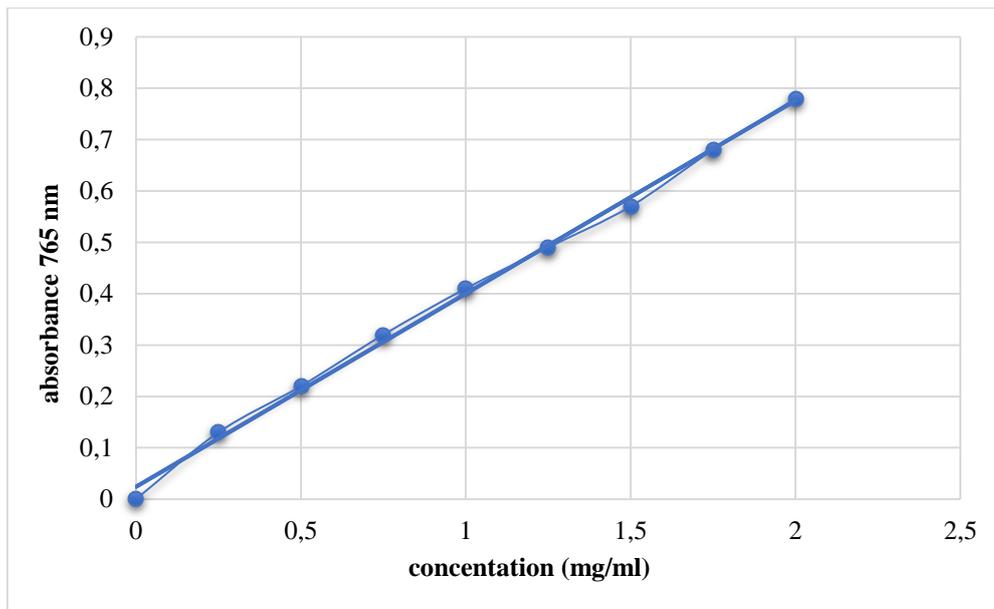
#### 3.1. Dosage des phénols totaux

Les concentrations totales en phénols ont été mesurées pour chaque extrait de *Rubus fruticosus* en utilisant la méthode (Folin-Ciocalteux).

Ces concentrations sont en mg d'acide gallique équivalent par gramme de matériel végétal sec (mg EAG/g). Les résultats sont illustrés dans le **tableau 17** ci-dessous.

**Tableau 17:** Teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles de *Rubus fruticosus*

Nature de l'extrait	Concentration des phénols totaux mg EAG/g
Extrait aqueux	68.6±0.381
Extrait méthanolique	59.39±1.635
Extrait éthanolique	54.21±1.118



**Figure 10:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

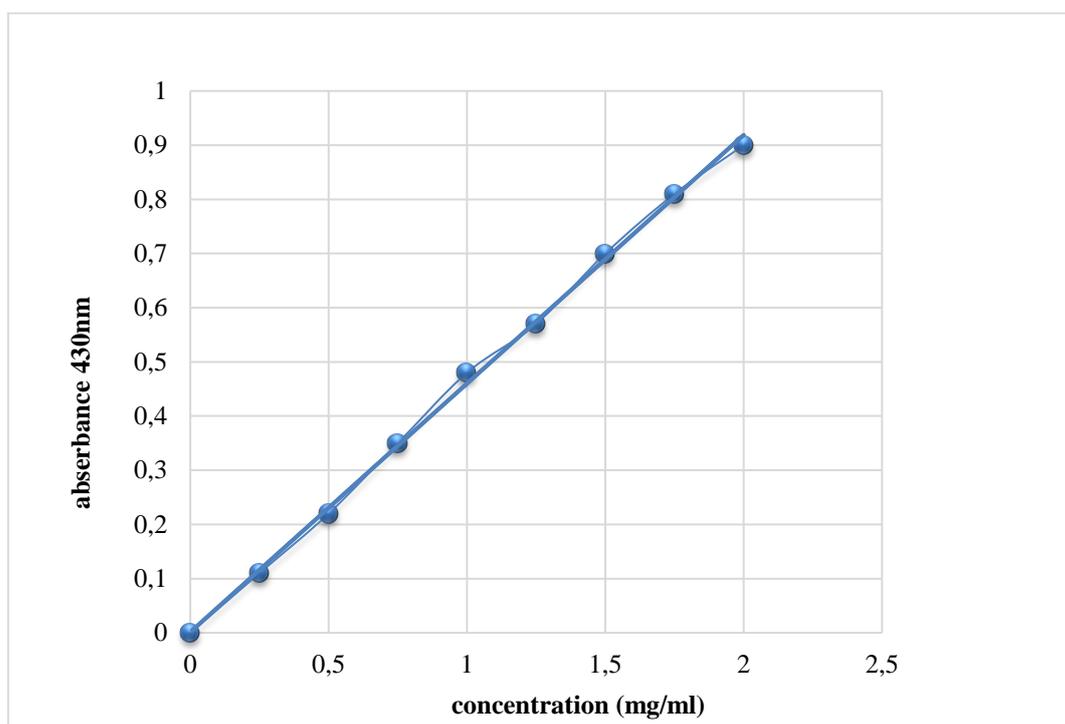
D'après la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Voir Figure 10**) nous avons pu évaluer la concentration des polyphénols totaux. Selon les résultats représentés dans **le tableau 17** Le taux des polyphénols de l'extrait aqueux semble être le plus élevé ( $68,6 \pm 0,381$  mg EAG/g) suivi de celui de l'extrait méthanolique ( $59,39 \pm 1,635$  mg EAG/g) et enfin de l'extrait éthanolique ( $54,21 \pm 1,635$  mg EAG/g). Ces taux en poly phénols totaux dépassent celui de **Beatrix et al. (2024)** ; qui ont trouvé une concentration en polyphénols dans les *fruits de Rubus fruticosus* de  $53,8$  mg EAG/g d'extrait. Ils dépassent également le taux observé par **Nuzhat et al. (2023)**, qui ont trouvés dans les feuilles de *Rubus fruticosus* des taux plus faibles en composés phénoliques ( $50,40 \pm 0,03$  mg EAG /g d'extrait). Différents éléments peuvent avoir un impact sur la quantité des composés phénoliques. Plusieurs recherches ont démontré que les éléments externes tels que la géographie et le climat, les facteurs génétiques, ainsi que le stade de maturation de la plante et la durée de stockage ont une influence significative sur la quantité des composés phénoliques (**Cheurfa et Allem, 2016**).

### 3.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des feuilles de *Rubus fruticosus* a été déterminée selon la méthode de trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  par la courbe d'étalonnage de la quercétine (**Figure 11**). Les résultats sont résumés dans **le tableau 18** ci-dessous.

**Tableau 18:** Teneurs en flavonoïdes des extraits des feuilles de *Rubus fruticosus*

Nature de l'extrait	Concentration en flavonoïdes mg EQ/g
Extrait aqueux	1.57±0.088
Extrait méthanolique	1.38±0.155
Extrait éthanolique	1.30±0.058

**Figure 11:** Courbe d'étalonnage de la quercétine.

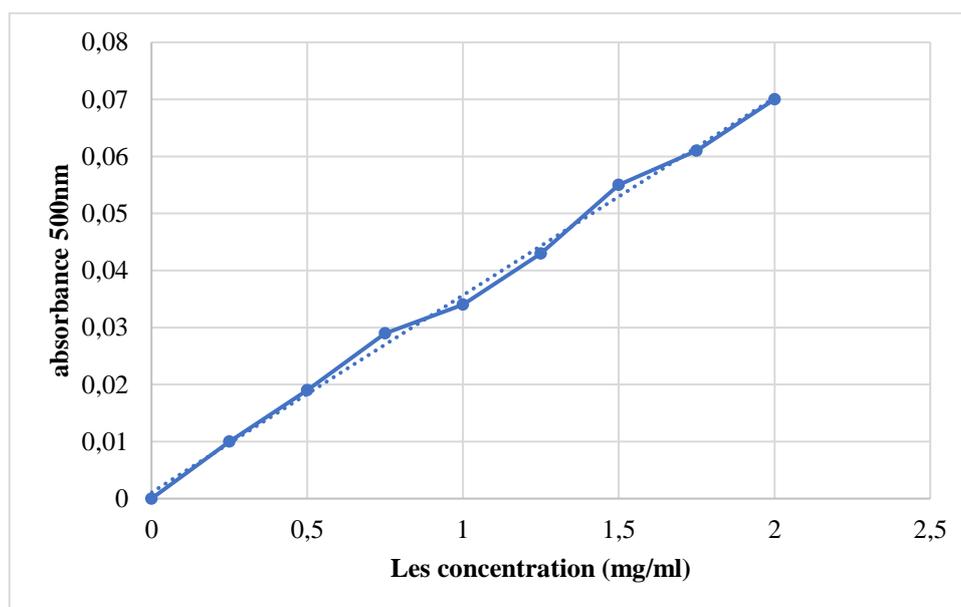
Selon les résultats représentés dans le **tableau 18**, la teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux des feuilles de *Rubus fruticosus* est la plus élevée (1.57±0.088 mg EQ/g) suivit de l'extrait méthanolique avec une concentration de 1.38±0.155 mg EQ/g et enfin de l'extrait éthanolique avec un taux de 1.30±0.058 mg EQ/g. Ces taux de flavonoïdes sont légèrement supérieurs à celui observé dans l'étude de **Lamichhane et al., (2023)** qui est de 0.77 mg EQ/ g d'extrait et inférieur au taux trouvé dans un extrait méthanolique des feuilles de la même plante collectée de la région de Bordj Bou Arréridj et qui est de **24,27±0.46 mg EQ/ g (Meziti et al., 2017)**. Il est également inférieur au taux estimé par **Beatrix et al. (2024)** qui est de 5.78 mg EQ/g et dont l'étude a été réalisée sur des fruits de *Rubus fruticosus*. En effet, la teneur en flavonoïdes varie selon la partie de la plante, selon la région de collecte et enfin selon la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits (**Chourfa et Allem, 2016 ; rachedi et al., 2018**).

### 3.3. Dosage de tanins

La méthode de la vanilline en milieu acide a été utilisée pour mesurer les tanins condensés des extraits des feuilles de *Rubus fruticosus*. C'est à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine (**Figure 12**) que nous avons pu évaluer la teneur de ces métabolites secondaires. Les résultats sont résumés dans le **tableau 19** ci-dessous.

**Tableau 19:** Teneur en tanins condensés des extraits des feuilles de *Rubus fruticosus*

Nature de l'extrait	Concentration des tanins condensés mg EC/g
Extrait aqueux	91.603
Extrait méthanolique	77.09
Extrait éthanolique	60.21



**Figure 12:** Courbe d'étalonnage de la catéchine

Les résultats représentés dans le **tableau 19** montrent que les niveaux de tanins condensés diffèrent d'un extrait à un autre. En effet, la teneur en tanins condensés des feuilles de *Rubus fruticosus L.* la plus élevée a été obtenue par l'extrait aqueux, avec 91,603 mg EC/g d'extrait sec, suivie de l'extrait méthanolique, avec 77,09 mg EC/g, et enfin de l'extrait éthanolique, avec 60,21 mg EC/g.

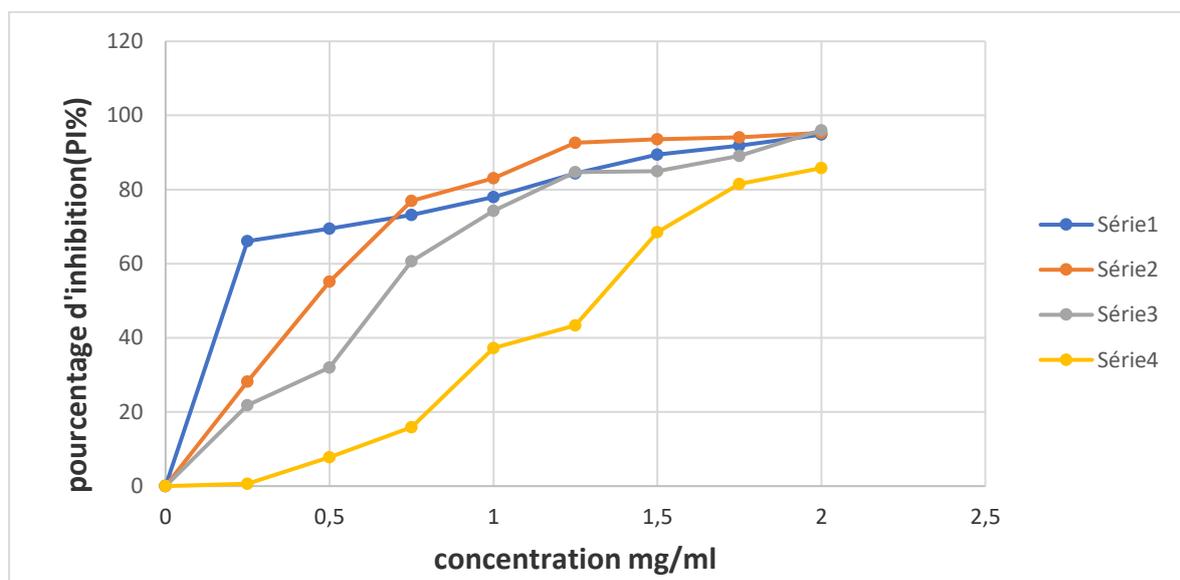
Les proportions de tanins condensés que nous avons identifiées dans les feuilles de *Rubus fruticosus* diffèrent probablement en raison de la différence de solubilité de ces principes dans le différent solvant utilisé (eau, méthanol et éthanol) (El Cadi et al., 2021)

#### 4. Evaluation du potentiel antioxydant des différents extraits par le test du piégeage du radical DPPH

Le potentiel antioxydant des différents extraits (aqueux, méthanolique, éthanolique) de *Rubus fruticosus* a été évalué en utilisant un test qui peut mesurer le transfert d'électrons ou d'hydrogène à un radical coloré stable et facile à détecter (DPPH) (Bensouici, 2015).

Les résultats de ce test ont été calculés grâce aux courbes des pourcentages d'inhibition de ce radical, en fonction des concentrations des différents extraits utilisés (la courbe de chaque extrait sera réduite en droite de régression  $y=ax+b$  où  $y$  est le pourcentage d'inhibition et  $x$  la concentration en extraits) (Figure 13).

Les résultats de ce test sont représentés dans le **tableau 20** ci-dessous.



**Figure 13:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH (série1 : acide ascorbique, série2: extrait aqueux, série3 : extrait éthanolique, série4 : extrait méthanolique).

**Tableau 20:** Les valeurs IC50 des différents extraits de *Rubus fruticosus*

Extrait/standard	Valeur IC50 mg/ml
Acide ascorbique	66.10 ±1.64
Extrait méthanolique	55.16 ± 1.56
Extrait éthanolique	60.69 ±1.70
Extrait aqueux	68.5 ± 1.88

Selon les résultats mentionnés dans le **tableau 20**, l'extrait méthanolique présente l'IC50 la plus faible, avec une valeur de  $55.16 \pm 1.56$  mg/ml, suivi de l'extrait éthanolique avec une valeur de  $60.69 \pm 1.70$  mg/ml. Ces valeurs sont inférieures à celle de l'antioxydant standard, l'acide ascorbique ( $66,10 \pm 1.64$  mg/ml), ce qui signifie que l'extrait méthanolique a le potentiel antioxydant le plus élevé, suivi de l'extrait éthanolique. L'activité antioxydante de ces deux extraits paraît être meilleure que celle de l'acide ascorbique. L'extrait aqueux semble quant à lui avoir le potentiel antioxydant le plus faible par rapport aux autres extraits et au standard (acide ascorbique) car son IC50 est la plus élevée ( $68,5 \pm 1.88$  mg/ml), mais il n'est pas très élevé par rapport à celui de l'acide ascorbique qui est de ( $66,10 \pm 1.64$  mg/ml). Ceci signifie que tous les extraits utilisés de *Rubus fruticosus* de la région de Guelma ont un potentiel antioxydant supérieur à l'acide ascorbique ou presque équivalent. Ces résultats ne concordent pas avec celui de **Nuzhat et al. (2023)** qui ont trouvé une valeur d'IC50 d'un extrait méthanolique des feuilles de *Rubus fruticosus* collectées d'une région du Pakistan, inférieure aux nôtres ( $24 \pm 0.14$  mg/ml). Cette différence de potentiel antioxydant des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH varie selon la quantité et la composition des extraits en principes et molécules antioxydantes telles que les polyphénols, flavonoïdes, tanins anthocyanes ... vitamines C etc. (**Khan et al., 2024**)

## 5. Etude de l'activité antibactérienne

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

Le **tableau 21** ci-dessous présente les résultats de la sensibilité d'*E coli* ATCC 25322 à l'égard des extraits testés de la plante et des antibiotiques.

**Tableau 21:** Sensibilité d'*E coli* vis-à-vis des différents extraits de la ronce et des antibiotiques

Les extraits et les antibiotiques	Doses	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Extrait méthanolique	10mg/ml	Sensible	9.60mm±0.57
	5mg/ml	Sensible	8mm±2
	2.5mg/ml	Résistante	7mm±1
Extrait éthanolique	10mg/ml	Sensible	12mm±1
	5mg/ml	Sensible	9.66mm±0.57
	2.5mg/ml	Sensible	10mm±1
Extrait aqueux	10mg/ml	Sensible	12mm±1
	5mg/ml	Sensible	10mm±1
	2.5mg/ml	Sensible	8mm±2
GEN10 : Gentamicine	/	Très sensible	26mm
AMX25 : Amoxicilline	/	Sensible	8mm
DMSO	/	Résistante	00mm
Eau distillée	/	Résistante	00mm

Par comparaison aux témoins négatifs (eau et DMSO), les résultats mentionnés dans le **tableau 21** ci-dessus montrent que :

*E. coli* est sensible à tous les extraits utilisés de *Rubus fruticosus* à l'exception de la dose 2.5mg/ml (la plus faible) de l'extrait méthanolique (zone d'inhibition de 7mm±1).

La sensibilité d'*E. coli* vis-à-vis de tous les extraits est dose -dépendant. Plus la dose de l'extrait est élevée plus la zone d'inhibition augmente.

Nous avons remarqué avec intérêt que l'extrait éthanolique est le plus efficace vis-à-vis d'*E coli* suivi de l'extrait aqueux et enfin de l'extrait méthanolique. En effet à la plus faible dose des extraits utilisée (2.5 mg/ml), la zone d'inhibition de l'extrait éthanolique est la plus

élevée (10mm±1) suivi de celle de l'extrait aqueux (8mm±2) et enfin de l'extrait méthanolique (7mm±1= résistance).

À La dose moyenne des extraits utilisées (5 mg/ml), nous avons remarqué avec intérêt qu'*E coli* a presque la même sensibilité vis-à-vis des deux extraits éthanolique et aqueux avec des zone d'inhibitions respectivement de 9.66mm ± 0.57 et 10mm ±1. Cependant elle est moins sensible à l'extrait méthanolique avec un halo d'inhibition de 8mm±2.

À la concentration la plus élevée des extraits utilisées (10 mg/ml), *E coli* semble avoir la même sensibilité vis-à-vis des deux extraits : éthanolique et aqueux, avec une zone d'inhibition de 12 mm±1. Cependant, elle semble être moins sensible vis-à-vis de l'extrait méthanolique avec un halo d'inhibition plus faible de 9.60mm±0.57.

En ce qui concerne l'efficacité des antibiotiques vis-à-vis d'*E coli*, les résultats révèlent que cette souche présenterait une sensibilité très élevée notamment vis-à-vis de la gentamicine avec un halo d'inhibition de 26mm. Cette bactérie semble être plus sensible à l'égard de cet antibiotique qu'aux extraits de plante. Cependant, elle semble être plus sensible aux extraits de plante qu'à l'amoxicilline (zone d'inhibition de 8mm ≤ zone d'inhibition générés par les extraits).

Les trois extraits de plante semblent avoir une efficacité prometteuse vis-à-vis d'*E coli*, qui concurrence en efficacité celle des antibiotiques. Tous les extraits de la ronce sont efficaces contre cette bactérie mais l'extrait éthanolique est le plus efficace suivi de près de l'extrait aqueux et enfin de l'extrait méthanolique. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Welia et al. (2020)**, qui ont également observé une sensibilité notable d'*E coli* à différentes doses de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* avec des diamètres croissants de la zone d'inhibition et doses- dépendant.

## 5.2. 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 dans **le tableau 22 ci – dessous**.

**Tableau 22:** Sensibilité de *P aeruginosa* vis-à-vis des différents extraits de la ronce et des antibiotiques.

Les extraits et les antibiotiques	Doses	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Extrait méthanolique	10mg/ml	Résistante	7mm± 1
	5mg/ml	Sensible	8mm±1.73
	2.5mg/ml	Sensible	9.66mm±0.57
Extrait éthanolique	10mg/ml	Sensible	8.33mm±0.57
	5mg/ml	Résistante	7.66mm±1.52
	2.5mg/ml	Résistante	6.66mm±0.57
Extrait aqueux	10mg/ml	Résistante	7mm±1
	5mg/ml	Résistante	6.33mm±0.57
	2.5mg/ml	Résistante	5.33mm±0.57
GEN10 : Gentamicine	/	Très sensible	20mm
C30 : Chloramphénicol	/	Sensible	9mm
DMSO	/	Résistante	00mm
Eau distillée	/	Résistante	00mm

Selon les résultats mentionnés dans le **tableau 22** ci-dessus nous pouvons dire que par comparaison aux témoins négatifs (Eau et DMSO) :

La souche *P aeruginosa* semble être résistante à toutes les doses (2.5mg/ml, 5mg/ml et 10 mg/ml) de l'extrait aqueux avec des zones d'inhibitions inférieures à 8 mm. Ces résultats contredisent ceux trouvés par (AFIF CHAOUCHE T., (2015), qui ont observé une sensibilité significative d'un groupe de bactéries, y compris *Pseudomonas aeruginosa*, en-vers l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus*. De plus, ils ont noté une augmentation du diamètre des zones d'inhibition avec des concentrations plus élevées de cet extrait.

Cette bactérie semble être sensible uniquement vis-à-vis de l'extrait méthanolique et éthanolique. Cependant l'extrait méthanolique semble être le plus efficace. En effet, à partir de la concentration la plus faible de l'extrait (2.5mg/ml), il présenterait déjà une zone d'inhibition élevée de  $9.66\text{mm}\pm 0.57$ .

*P aeruginosa* n'est sensible à l'extrait éthanolique qu'à la dose la plus élevée (10 mg/ml) avec une zone d'inhibition de  $8.33\text{mm}\pm 0.57$  dont la valeur se rapproche de celle de l'extrait méthanolique ( $8\text{mm}\pm 1.73$ ) mais à une concentration plus faible (5 mg/ml).

Nous notons également que cette bactérie présente une sensibilité aux antibiotiques testés dans l'antibiogramme plus précisément envers la gentamicine avec une zone d'inhibition de 20 mm qui est supérieure à celle des différents extraits utilisés de la plante, suivie du chloramphénicol avec un halo d'inhibition de 9 mm. Ce dernier antibiotique a une efficacité inférieure à celle de l'extrait méthanolique à la dose 2.5mg/ml (9 mm vs  $9.66\text{mm}\pm 0.57$ ).

### 5.3. 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 le **tableau 23** ci-dessous.

**Tableau 23:** Sensibilité de *S aureus* vis-à-vis des différents extraits de la ronce et des antibiotiques.

Les extraits et les antibiotiques	Les doses	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Extrait méthanolique	10mg/ml	Sensible	$18.33\text{mm}\pm 0.57$
	5mg/ml	Sensible	$9\text{mm}\pm 1$
	2.5mg/ml	Résistante	$7\text{mm}\pm 1$
Extrait éthanolique	10mg/ml	Sensible	$8.66\text{mm}\pm 3.05$
	5mg/ml	Sensible	$9.33\text{mm}\pm 1.52$
	2.5mg/ml	Sensible	$11\text{mm}\pm 1$
Extrait aqueux	10mg/ml	Sensible	$11.33\text{mm}\pm 1.52$
	5mg/ml	Sensible	$9.66\text{mm}\pm 2.08$
	2.5mg/ml	Sensible	$9.33\text{mm}\pm 2.30$
GEN10 : Gentamicine	/	Très sensible	26mm

VA30 : Vancomy- cine	/	Très sensible	26mm
DMSO	/	Résistante	00mm
Eau distillée	/	Résistante	00mm

Selon le **tableau 23**, par comparaison aux témoins négatifs (eau et DMSO), nos résultats sur la sensibilité de *S aureus* vis-à-vis des différents extraits de la plante et des antibiotiques montrent que :

*S aureus* est sensible à toutes les concentrations des différents extraits de la plante (aqueux, éthanolique et méthanolique) à l'exception de la plus faible dose (2.5 mg/ml) de l'extrait méthanolique (halo d'inhibition de 7mm±1).

À la plus faible dose utilisée des extraits (2.5 mg/ml), l'extrait éthanolique semble être plus efficace contre *S aureus* que l'extrait aqueux, avec des zones d'inhibition respectives de 11mm±1 et 9.33mm±2.30.

À la concentration moyenne 5 mg/ml, l'extrait aqueux semblent être le plus efficace contre *S aureus* avec un halo d'inhibition de 9.66mm±2.08 suivis de l'extrait éthanolique (9.33mm±1.52) et enfin de l'extrait méthanolique (9mm± 1). Ces résultats sont en accord avec ceux de **Rajeswari et al. (2010)**, qui ont également observé une sensibilité notable des *S aureus* à différentes doses d'un extrait aqueux de *Rubus fruticosus*. De plus, ils ont remarqué que les diamètres des zones d'inhibition augmentent à des concentrations plus élevées de cet extrait.

À la concentration la plus élevée 10 mg/ml, l'extrait méthanolique semble être plus efficace contre *S aureus* suivi de l'extrait aqueux et enfin de l'extrait éthanolique avec des zones d'inhibitions respectivement de 18.33mm± 0.57, 11.33mm±1.52 et enfin 8.66mm±3.05.

Les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques indiquent que cette souche présente une sensibilité plus élevée aux deux antibiotiques testées par rapport aux extraits testés avec des zones d'inhibition mesurant respectivement 26 mm et 26 mm pour la vancomycine et la gentamicine.

En conclusion, il est intéressant de noter que les trois types d'extraits de *Rubus fruticosus* (méthanolique, éthanolique et aqueux) ont démontré leur efficacité contre les deux bactéries *E. coli* et *S. aureus*. En ce qui concerne, *P. aeruginosa*, elle n'a été sensible que vis-à-vis des deux extraits méthanoliques et éthanoliques (résistance à l'extrait aqueux). Il faut rappeler que *Rubus fruticosus* contient des flavonoïdes, tanins, saponines, glycosides, terpènes, stérols et glucides

(Aduragbenro *et al.*, 2009). Ces composés ont été décelés également dans notre étude phytochimique. Ils sont connus pour leurs propriétés antibactériennes (Scalbert, 1991). Leur présence pourrait donc expliquer les activités antimicrobiennes observées.

Concernant deux bactéries *E coli* et *P aeruginosa*, l'activité antibactérienne des différents extraits est potentiellement meilleure ou équivalente à celle de certains antibiotiques. Par rapport à *S aureus*, l'activité antibactérienne des différents extraits est prometteuse, elle n'atteint pas un diamètre de zones d'inhibition des antibiotiques (26 mm) mais elle peut atteindre tout de même un halo d'inhibition satisfaisant de  $18.33\text{mm} \pm 0.57$  pour l'extrait méthanolique.

#### 5.4. Détermination des paramètres antibactériens des différents extraits de la Ronce

##### 5.4.1. 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 24** ci-dessous

**Tableau 24:** La CMI des différents extraits vis-à-vis des différentes souches bactériennes

Les différentes souches Bactériennes	CMI des différents extraits		
	Extrait aqueux	Extrait méthanolique	Extrait éthanologique
<i>E. coli</i>	2.5mg/ml	5mg/ml	1.25mg/ml
<i>P. aeruginosa</i>	/	2.5mg/ml	10mg/ml
<i>S. aureus</i>	/	5mg/ml	/

Nos résultats sur la CMI mentionnés sur le **tableau 24** Montrent que :

Pour *E. coli*, la concentration minimale inhibitrice CMI de l'extrait éthanologique (1.25 mg/ml) est inférieure à celle de l'extrait aqueux (2.5 mg/ml) et cette dernière est inférieure à celle de l'extrait méthanolique (5 mg/ml). Ce qui signifie que l'extrait éthanologique inhibe la croissance d'*E coli* à une concentration inférieure à celle de l'extrait aqueux et que ce dernier inhibe la croissance de cette bactérie à une dose inférieure à celle de l'extrait méthanolique. L'extrait éthanologique a une activité antibactérienne supérieure à celle de l'extrait aqueux et ce dernier a une activité supérieure à celle de l'extrait méthanolique.

Pour *P. aeruginosa*, la CMI de l'extrait méthanolique (2.5 mg/ml) est inférieure à celle de extraits éthanolique (10 mg/ml). Ce qui signifie que l'extrait méthanolique a une activité inhibitrice vis-à-vis de *P aeruginosa* supérieure à celle de l'extrait éthanolique. Pour l'extrait aqueux, aucune CMI n'a été observée aux doses utilisées. Ce qui signifie que la bactérie est soit résistance vis-à-vis de cet extrait ou que les doses inhibitrices sont très éloignées des doses choisies dans l'étude.

En ce qui concerne *S. aureus*, la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait méthanolique est de 5mg/ml. Cependant, aucune CMI n'a été observée pour les deux extraits aqueux et éthanolique malgré le fait qu'à la dose 2.5 mg/ml et par la méthode des disques par diffusion sur milieu gélosé, *S aureus* a présenté des zones d'inhibitions satisfaisantes (**Tableau 24**). Cela pourrait signifier que la CMI de ces deux extraits pourrait être inférieure à 2,5 mg/ml et très éloignées des dilutions choisies pour repérer la CMI. L'extrait éthanolique et aqueux sont donc plus efficaces contre *S aureus* que l'extrait méthanolique.

#### 5.4.2. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

En ensemençant les tubes de la CMI de chaque extrait et les concentrations inférieures à ce tube, sur gélose MH, pour chaque bactérie (*E coli*, *P aeruginosa* et *S aureus*) nous avons remarqué une croissance bactérienne dans toutes les boîtes ensemencées et nous n'avons pas pu donc repérer la CMB. Ce qui signifie que les trois extraits utilisés aqueux, éthanolique et méthanolique ont une activité antibactérienne bactériostatique (inhibitrice de la croissance bactérienne) et n'ont pas d'activité bactéricide.

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**).

### 6. Evaluation de l'activité insecticide des extraits de *Rubus fruticosus* vis-à-vis des adultes de *Tribolium castaneum*

L'efficacité des trois types d'extraits (méthanolique, éthanolique et aqueux) de *Rubus fruticosus* comme bio insecticides, vis-à-vis des adultes de *Tribolium castaneum* a été évaluée à partir de la mortalité enregistrée et notée pendant les 24 heures, 48 heures et 72 heures. Cet effet toxique a été évalué après application par voie topique abdominale de plusieurs doses de ces différents extraits (0.07, 0.15, 0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5,10, 20, 40mg/ml).

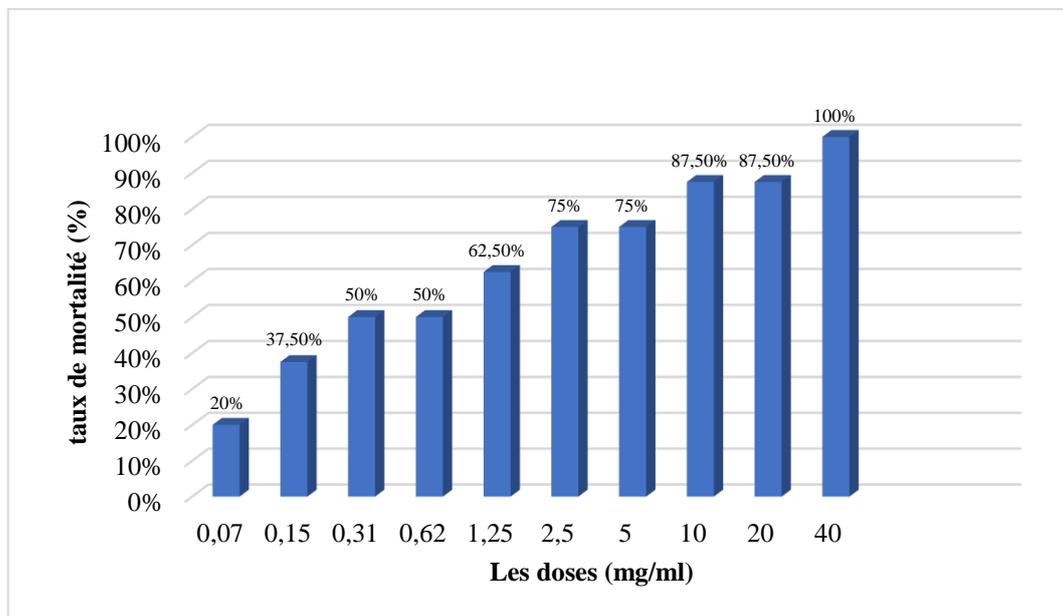
Les taux de mortalités observées sont ajustés en utilisant la formule d'Abbott (1995). Cette formule permet de supprimer la mortalité naturelle et de déterminer l'effet toxique réel du bio-insecticide.

### 6.1. Effet bio insecticide de l'extrait méthanolique

Les taux de mortalités de *T castaneum* par application topique des différentes doses de l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* sont représentées par les figures 14, 15 et 16 ci-dessous :

#### 6.1.1. Effet bio insecticide après 24h

La (figure 14) montrent que l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* a un effet toxique sur les adultes de *Tribolium castaneum* dans les 24h de traitement avec le taux de mortalité corrigée le plus élevé (100%) pour la dose la plus concentrée de l'extrait (40mg/ml) suivi des doses (0.31mg/ml et 0.62mg/ml) de l'extrait avec un taux de mortalité de 50%. En ce qui concerne la dose la moins concentrée (0.07mg/ml), le taux de mortalité est de 20%. Nous remarquons donc que plus l'extrait est concentré plus le taux de mortalité augmente.



**Figure 14:** Evaluation de l'effet toxique de l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 24h de traitement.

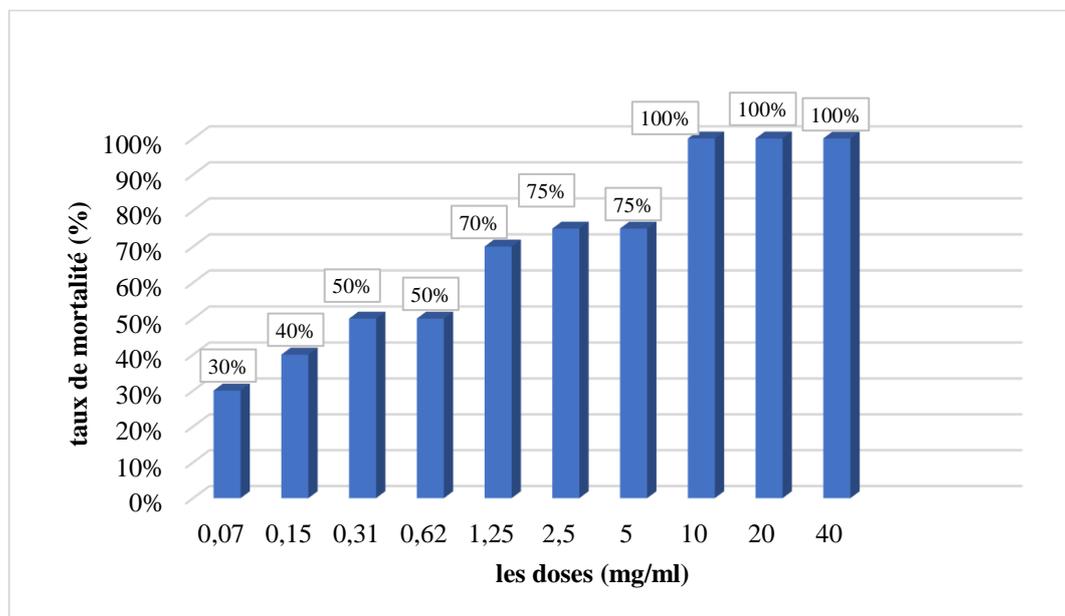
#### 6.1.2. Effet bio insecticide après 48h

À partir des résultats de la mortalité corrigée représentés par la figure 15, nous remarquons avec intérêt qu'après 48h, l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* aurait un effet

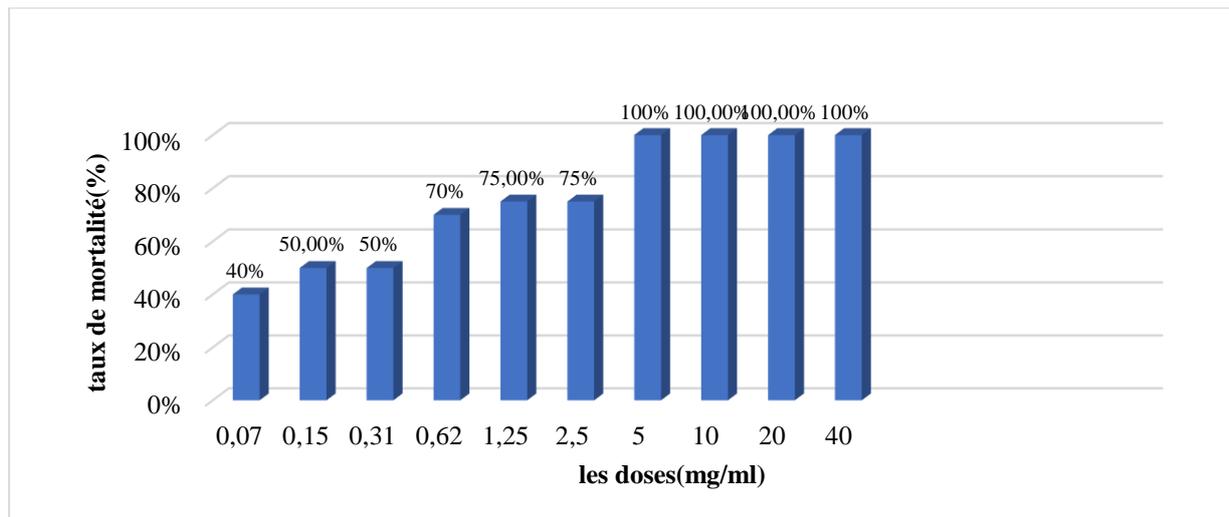
toxique dose -dépendant vis-à-vis des adultes de *Tribolium castaneum*. En effet, le taux de mortalité le plus élevé (100%) a été enregistré à partir de la dose 10 mg/ml de l'extrait. 50% de mortalité a été enregistré aux deux doses (0.62, et 0.31mg/ml) et enfin la dose la plus faiblement concentrée (0.07mg/ml) a généré un taux de mortalité de 30%.

### 6.1.3. Effet bio insecticide après 72h

Les résultats de la mortalité corrigée, représentés par la **figure 16**, montre qu'après 72h de traitement, l'extrait méthanolique de *Rubus Fruticosus* aurait un effet dose-dépendant et très toxique vis-à-vis des adultes de *Tribolium castaneum*. En effet, nous remarquons avec intérêt que le taux de mortalité le plus élevé (100%) a été enregistré à partir de la dose 5 mg/ml de l'extrait. 50% de mortalité a été enregistré aux deux doses (0.15 mg/ml et 0.31mg/ml) et enfin la dose la plus faible de l'extrait 0.07 mg/ml a généré un taux de mortalité de 40%.



**Figure 15:** Evaluation de l'effet toxique de l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 48h de traitement.



**Figure 16:** Evaluation de l'effet toxique de l'extrait méthanolique de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 72h de traitement.

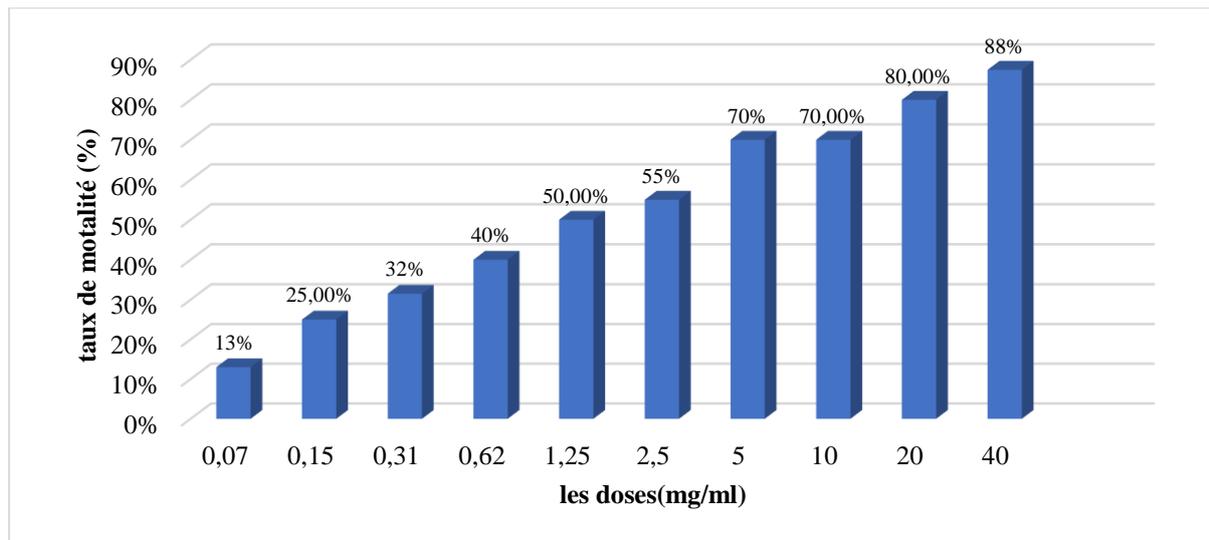
D'après nos résultats antérieures (**Figure 14, 15 et 16**), la mortalité corrigée des insectes est influencée à la fois par la dose utilisée et par le temps d'exposition aux extraits. Nous constatons et avec intérêt, que plus le temps d'exposition est long, plus la dose de l'extrait méthanolique pour atteindre les 100 % de mortalité des insectes est faible et inversement (40mg/ml à 24h, 10mg/ml à 48h et 5mg/ml à 72h). Nous remarquons également que plus le temps d'exposition est long plus les doses pour atteindre les 50% de mortalité diminuent (elles étaient entre 0.31mg/ml et 0.61 mg/ml entre 24h et 48h et sont entre 0.15 mg/ml et 0.31 mg/ml à 72h d'exposition). Nous constatons également que le taux de mortalité augmente avec le temps pour les doses, les plus faibles de l'extrait 0.07mg/ml (20% à 24h, 30% à 48h et 40% à 72h).

## 6.2. Effet bio insecticide de l'extrait éthanolique

Les taux de mortalités de *T castaneum* par application topique des différentes doses de l'extrait éthanolique de *Rubus fruticosus* sont représentés par les **figures 17, 18 et 19** ci-dessous :

### 6.2.1. Effet bio insecticide après 24h

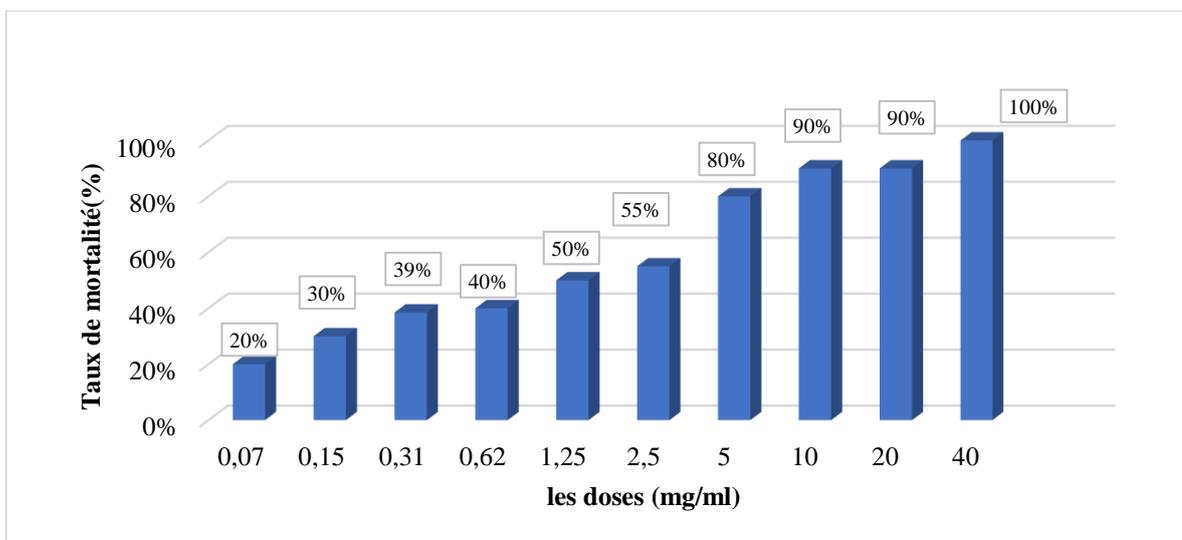
D'après les résultats représentés dans **la figure 17** ci dessous, il est évident que le taux de mortalité corrigée des insectes adultes est dose -dépendant. Pour la dose la plus élevée de l'extrait éthanolique (40mg/ml), le taux de mortalité des insectes n'atteint pas les 100 % (88%). 50% de mortalité est atteinte à la dose 1.25 mg/ml de l'extrait. Le taux de mortalité pour la plus faible dose utilisée de l'extrait (0,07mg/ml) est seulement de 13%.



**Figure 17:** Evaluation de l'effet toxique de l'extrait éthanolique de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 24h de traitement.

### 6.2.2. Effet bio insecticide après 48 h

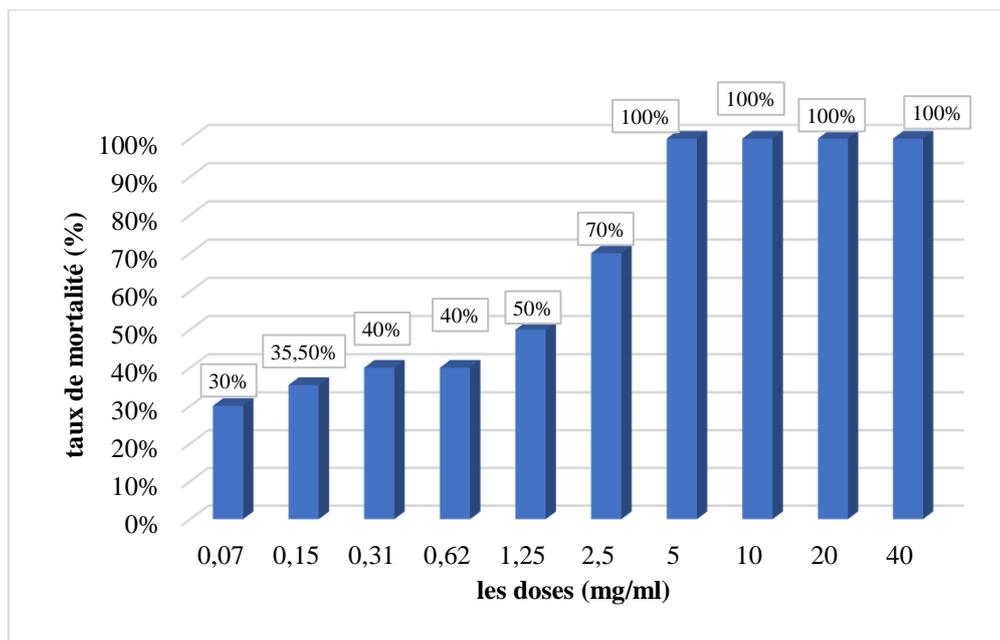
À partir des résultats de la mortalité corrigée représentés par la **figure 18**, nous remarquons avec intérêt qu'après 48h, l'extrait éthanolique de *Rubus fruticosus* aurait un effet toxique dose-dépendant vis-à-vis des adultes de *Tribolium castaneum*. En effet, le taux de mortalité le plus élevé (100%) a été enregistré avec la dose la plus élevée de l'extrait 40 mg/ml. 50% de mortalité a été enregistré à la dose 1.25 mg/ml et enfin la dose la plus faiblement concentrée 0.07mg/ml de l'extrait a généré un taux de mortalité que de 20%.



**Figure 18:** Evaluation de l'effet toxique de l'extrait éthanolique de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 48h de traitement.

### 6.2.3. Effet bio insecticide après 72 h

D'après la **figure 19** ci-dessous, il est évident qu'après 72 heures d'exposition à l'extrait éthanolique, plus la dose augmente plus on aura un taux de mortalité des adultes de *Tribolium castaneum* élevé. Nous avons remarqué avec intérêt que le taux 100 % de mortalité est atteint précocement à partir de la dose 5 mg/ml de l'extrait éthanolique. 50% de mortalité est atteint toujours à la dose 1.25 mg/ml de l'extrait. À la dose la plus faible de l'extrait 0,07mg/ml, le taux de mortalité atteint les 30%.



**Figure 19:** Evaluation de l'effet toxique de l'extrait éthanolique de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 72h de traitement.

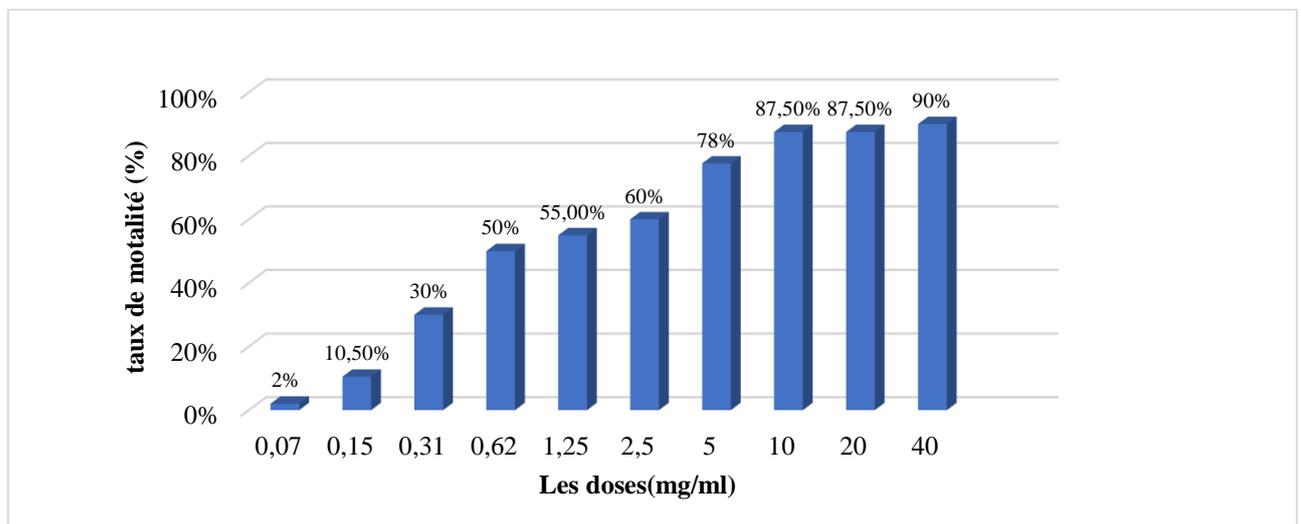
D'après nos résultats précédents représentés dans les **figures 17, 18 et 19**, nous remarquons avec intérêt que l'effet toxique de l'extrait éthanolique sur *T castaneum* est dose-dépendant et dépend également du temps d'exposition aux différentes concentrations de l'extrait. En effet, plus le temps d'exposition augmente plus le taux de mortalité augmente. À 24h d'exposition, 100% de mortalité ne sont pas atteints, même à la dose la plus élevée de l'extrait (pour 40 mg/ml on a seulement 88% de mortalité), à 48h d'exposition et à cette même dose, les 100% de mortalité sont enfin atteints et enfin à 72h, les 100% de mortalité sont atteints pour des doses plus faibles de l'extrait (à partir 5 mg/ml). À la plus faible dose de l'extrait de plante (0.07 mg/ml), le taux de mortalité est de 13% à 24h, de 20% à 48h et de 30% à 72h. Toutefois les 50% de mortalité sont toujours atteintes à la dose 1.25 mg/ml peu importe le temps d'exposition.

### 6.3. Effet bio insecticide de l'extrait aqueux

Les taux de mortalités de *T castaneum* par application topique des différentes doses de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sont représentés par les figures 20, 21 et 22 ci-dessous :

#### 6.3.1. Effet bio insecticide après 24 h

Les résultats de la mortalité corrigée montrent que l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* a un effet toxique dose-dépendant vis-à-vis des adultes de *Tribolium castaneum*. Dans les 24h de traitement, le taux de mortalité corrigée pour la concentration la plus élevée de l'extrait (40mg/ml) est élevé mais il n'atteint pas les 100%. Il est de 90% pour la dose la plus concentrée de l'extrait. 50 % de mortalité sont atteints par la dose 0.62mg/ml de l'extrait et enfin de la dose la moins concentrée (0.07mg/ml) a généré un taux de mortalité très faible qui est de 2%.



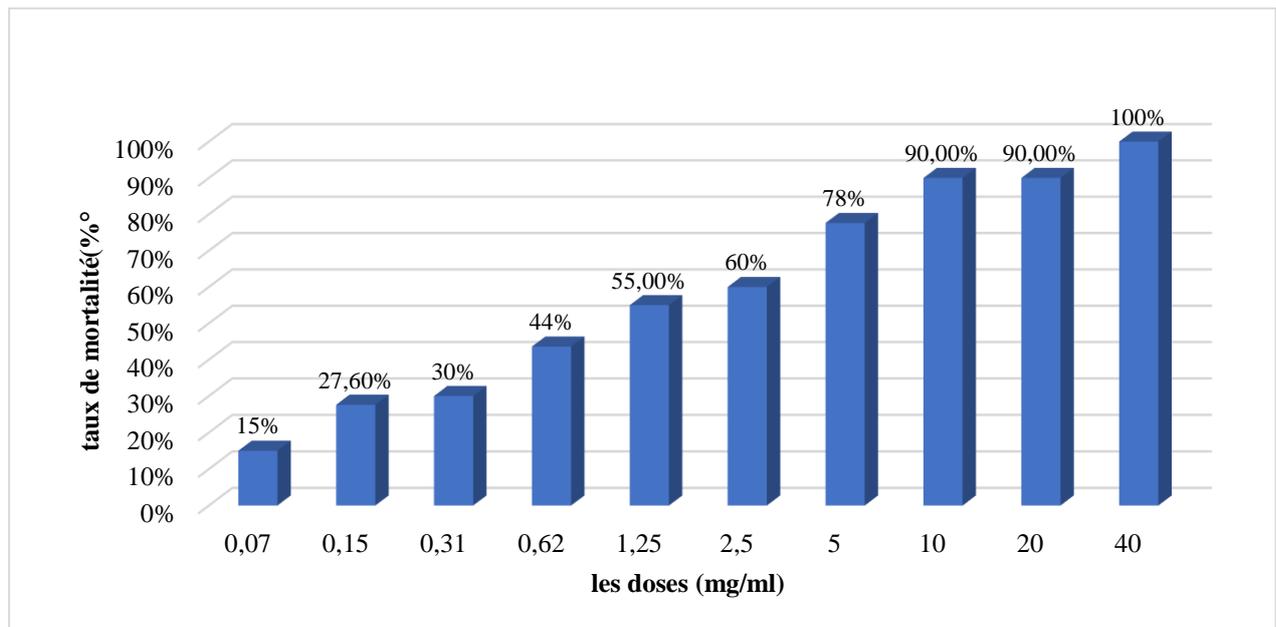
**Figure 20:** Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 24h de traitement.

#### 6.3.2. Effet bio insecticide après 48 h

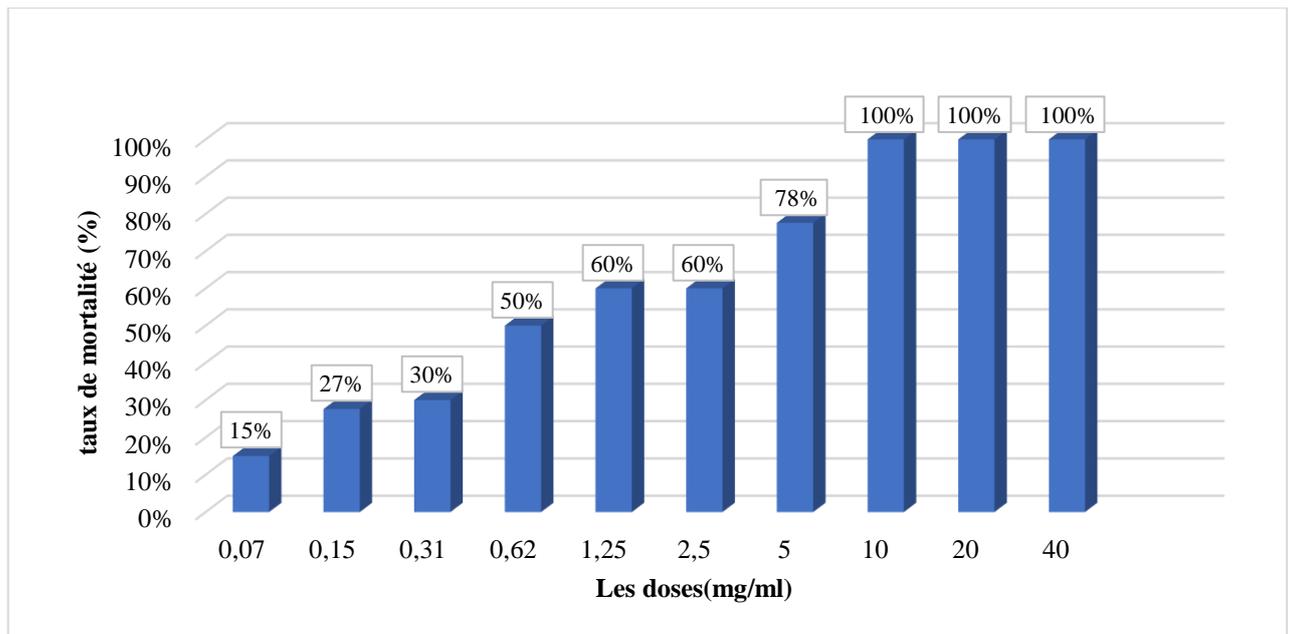
Selon la figure 21, le taux de mortalité des insectes après 48 heures de traitement par l'extrait aqueux est dose-dépendant. 100% de mortalité des insectes a été aperçue à la dose la plus élevée, 40 mg/ml. 50% de mortalité est générée par une dose intermédiaire entre des deux doses 0.62mg/ml et 1.25 mg/ml de l'extrait. À la dose la plus faible de l'extrait (0,07 mg/ml), le taux de mortalité serait de 15 %.

### 6.3.3. Effet bio insecticide après 72 h

Le taux de mortalité des insectes après 72h de traitement par l'extrait aqueux est représenté par la **figure 22**. Les résultats montrent que plus la dose en extrait augmente plus le taux de mortalité augmente. 100% de mortalité de *T. castaneum* a été aperçue à partir de la dose 10 mg/ml. 50% de mortalité est générée par la dose de 0.62 mg/ml. À la dose la plus faible de l'extrait (0,07 mg/ml), le taux de mortalité est de 15%.



**Figure 21:** Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 48h de traitement.



**Figure 22:** Evaluation de l'effet toxique de l'extrait aqueux de *Rubus fruticosus* sur les adultes de *Tribolium castaneum* après 72h de traitement.

Selon les figures 20, 21 et 22, nous constatons que l'effet de l'extrait aqueux est dose dépendant. Nous remarquons également que plus le temps d'exposition à cet extrait est long, les doses létales (100%) seront atteintes rapidement (la concentration des doses létales sera plus faible : à 24h d'exposition à la dose la plus élevée de l'extrait (40 mg/ml), seulement 90% des taux de mortalité sont atteints. À 48 h d'exposition à la même dose élevée de l'extrait, les 100% de mortalité sont atteints et enfin à 72h, les 100% de mortalité sont atteints à des doses plus faible de l'extrait (à partir de 10 mg/ml). Toutefois la dose où on a 50% de mortalité est presque constante peu importe le taux d'exposition (entre 0.62 mg/ml et 1.25 mg/ml). Aux doses les plus faibles 0.07 mg/ml de l'extrait, le taux de mortalité augmente de 24h à 48h (de 2% à 15%) après il reste constant de 48h à 72h (15%).

En résumé, les résultats sur l'effet insecticide des différents extraits de *Rubus fruticosus* montrent une efficacité remarquable de l'extrait méthanolique suivi de l'extrait éthanolique et de l'extrait aqueux. La différence d'efficacité de ces trois extraits dépend de leur composition différente en principes actifs insecticides, de la sensibilité de l'insecte vis-à-vis de ces derniers et de la méthode d'application des extraits (Hami et al., 2005 ; Diop et al., 2021).

Il est à noter qu'aucune étude scientifique n'a été entreprise pour évaluer l'effet bioinsecticide (biopesticide) des différents extraits de cette plante vis-à-vis de *T castaneum* ou un autre insecte. D'autres plantes du même genre : *Rubus steudneri* et *Rubus apetalus* ont eu un effet larvicide contre des moustiques du genre *Aedes* et *Culex*, Ces résultats suggèrent que les plantes

du genre *Rubus* ont probablement un potentiel bioinsecticide grâce à la multitude de principes actifs dont ils sont constitués. Il est connu que certains métabolites secondaires des plantes jouent un rôle de répulsifs et sont toxiques vis-à-vis des insectes ravageurs et des agents pathogènes qui nuisent à leur développement (**Dewitte et al., 2021**).

---

## **Conclusion et Perspectives**

---

**Conclusion:**

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

Après préparation des différents extraits, le rendement en extrait méthanolique (16.54%) était légèrement plus élevé que celui de l'extrait éthanolique (13%) et de l'extrait aqueux (9.38%).

Plusieurs tests phytochimiques ont été réalisés sur la poudre et les extraits de la plante étudiée. Ils ont révélé la présence, au niveau de la poudre de plante, de flavonoïdes, tanins, saponosides, stérols et terpènes et mucilages avec absence d'alcaloïdes. Tous ces principes actifs ont été retrouvés dans l'extrait méthanolique, tandis que l'extrait aqueux et éthanolique contiennent toutes les composantes de la poudre de plante à l'exception des stérols et terpènes pour le premier extrait et stérols et terpènes et saponosides pour le second.

Le dosage des éléments actifs antioxydants tels que la famille des polyphénols, incluant les flavonoïdes et les tanins révèlent la présence de quantités élevées de ces principes dans l'extrait aqueux suivi de l'extrait méthanolique et enfin de l'extrait éthanolique.

L'évaluation du potentiel antioxydant des différents extraits par le test de piégeage des molécules oxydantes DPPH a révélé que tous les extraits utilisés ont un grand potentiel antioxydant qui est parfois plus élevé que celui de l'acide ascorbique.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des trois extraits, testés à différentes concentrations (2,5, 5 et 10 mg/ml), sur les trois souches bactériennes potentiellement pathogènes (*Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25322), a révélé que les deux bactéries *E coli* et *S aureus* sont sensibles aux trois types d'extraits tandis que *P aeruginosa* n'est sensible qu'aux deux extraits méthanolique et éthanolique.

L'extrait éthanolique semble être plus efficace vis-à-vis d'*E coli* avec une CMI de 1.25 mg/ml tandis que l'extrait méthanolique semble plus efficace vis-à-vis de *P aeruginosa* avec une CMI de 2.5 mg/ml. En ce qui concerne *S aureus*, l'extrait éthanolique est le plus efficace utilisé à la plus faible dose 2.5 mg/ml tandis que l'extrait aqueux est le plus efficace à la dose moyenne utilisée de l'extrait (5 mg/ml) et enfin l'extrait méthanolique est le plus efficace à la dose la plus élevée de l'extrait (10 mg/ml) avec une CMI de 5 mg/ml.

Aucune CMB n'a été repérée pour les trois types d'extraits testés, ce qui signifie que ces différents extraits exerceraient uniquement une action bactériostatique et non pas bactéricide vis-à-vis de ces souches bactériennes.

Les résultats de l'évaluation de l'efficacité des trois types d'extraits (aqueux, éthanolique et méthanolique) comme biopesticides contre l'insecte ravageur des denrées stockées *Tribolium castaneum*, montrent que les trois extraits sont efficaces vis-à-vis de cet insecte avec un taux de mortalité dose- dépendant qui augmente avec le temps d'exposition. L'extrait méthanolique semble être plus toxique sur l'insecte, que les deux autres extraits.

Après cette étude, il est conclu que les extraits de *Rubus fruticosus* pourraient constituer une source prometteuse de nouvelles substances ayant des propriétés antibactériennes et insecticides. Pour approfondir cette recherche, des améliorations pourraient être apportées :

-Augmenter l'échantillonnage en incluant d'autres types de bactéries et d'insectes.

-Effectuer une analyse chimique approfondie des extraits de la plante en utilisant une méthode telle que la chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-SM).

Explorer différentes concentrations de la plante dans l'étude.

Effectuer une analyse statistique pour renforcer la validité des résultats.

---

# **Les références Bibliographiques**

---

### A

**ABERKANE.C., (2024)** Contribution à l'étude de la prévalence des colibacilles (*Escherichia coli*) aviaires et de leurs influences sur les performances zootechnique Thèse DOCTORAT En Sciences Agronomiques UNIVERSITE MOHAMED-KHIDER–BISKRA.

**AFIF CHAOUCHE T., (2015)** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou – Algérie THESE de Doctorat en Biologie Microbiologie appliquée.

**Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Mesbah, S. (2018).** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. Bulletin de la société royale des sciences de liège

**Amairi, T. (2021),** Résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés des abattoirs et élevages de poulet de chair au Nord-Est d'Algérie, thèse de doctorat, Université Mohamed Khider de Biskra, p : 123

**Amini, R. (2010).** Analyse chimique et activité bactérienne de trois plantes médicinales antituberculeuses à Kisangani. Monographie, inédite, faculté des sciences, UNIKIS, 24.

**AOUES, k., (2018).** AMELIORATION DES TECHNIQUES DE STOCKAGE DU BLE POUR LA PRESERVATION CONTRE LES ATTAQUES DE QUELQUES DEPR DATEURS DES STOCKS. THESE DE DOCTORAT En Sciences agronomiques : UNIVERSITÉ BLIDA 1, p : 42

**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). 10( 2).

**Arab, R. (2018).** Effet insecticide des plantes *Melia azedarach* L. et *Peganum harmala* L. sur l'insecte des céréales stockées *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera, Tenebrionidae). Université Ferhat Abbas-Setif

### B

**Bachelet, B., Reinhold, T., Wirth, C., and Hill, D. (2013).** Plasticity of plant form and function sustains productivity and dominance along environment and competition gradients. A modeling experiment with Gemini.

**Bahorun, T., Grinier, B., Trotin, F., Brunet, G., Pin, T., Luncky, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, C et Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11), p: 1086-1089

**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.

**Benelmil, S. (2021)**, Etude du profil bactériologique et de la résistance aux Antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau du CHU de Constantine, Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri Constantine 1, p : 125

**Benzeggouta N., (2005)**. Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Magister pharmacochimie. Université Mentouri de Constantine, p : 153.

**Boumediou A. et Addoun S. (2017)**. Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen. Mémoire de docteur en pharmacie. Université Abou Bakr Belkâid-Tlemcen. P : 67.

**Bouyahya · Y. Bakri · A. Et-Touys · A. Talbaoui · A. Khouchlaa · S. Charfi · J. Abrini · N. Dakka. (2017)** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries Resistance to Antibiotics and Mechanisms of Action of Essential Oils against Bacteria PHARMACOLOGIE.

**Bouزيد, Z., Debbab, M., Belaoui, M., and Ghellai, N. (2016)**. Réactualisation de l'Évaluation du Gisement Solaire et Analyse de sa Complémentarité avec l'Énergie Éolienne en Algérie.

### C

**Chabrier J.Y. (2010)**. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Diplôme de docteur en pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1. P :165.

**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)**. Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic *Ocimum basilicum* extraite par hydro-distillation. Thèse de doctorat en sciences. Université oran.ahmed ben bella. P :135.

**Chevance, A., Ravaud, P., Tomlinson, A., Le Berre, C., Teufer, B., Touboul, S., ... and Tran, V. T. (2020)**. Identifying outcomes for depression that matter to patients, informal caregivers, and health-care professionals: qualitative content analysis of a large international online survey. *The Lancet Psychiatry*, 7(8), p: 692-702.

**CHRISTINE, B., (2001)**. Contrôle de la qualité des céréales et protéagineux, guide pratique. 2ième Edition

**CLIFFORD TREVOR, H., BOSTOCK, P. D. (2007)**. Etymological Dictionary of Grasses. New York : Springer –Verlagheidelberg

**Couplan F, (2012)**, Les plantes et leurs noms, Editions Quae, p : 108

### D

**Delarras .C., Trébaol .B., Durand .J. (2010)**. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : Réglementation-Micro-organismes-Prélèvements-Analyse. 2ème édition. Éditions Tec et Doc. Lavoisier. p : 542

**Denis F. et Marie C., (2013)**. Bactériologie Médicale. 2ème Ed. Paris : Elsevier Masson, p :126-336

**Derfallou, A, Ghadri, H. (2017).** Etudes des plantes phytothérapeutiques des nomades en Algérie Steppique « M'sila, Djelfa ». Mémoire présenté pour l'obtention Du diplôme de Master Académique. Université Mohamed Boudiaf - M'sila.

**DJIDEL, A., DAGHBOUCHE, S., BENRIMA, A., & DJAZOULI, Z. E. (2018).** ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ INSECTICIDE DE L'EXTRAIT AQUEUX BRUT DE LA FABACAE CYTISUS TRIFLORUS L'HER À L'ÉGARD DETRIBOLIUM CASTANIMUM (HERBST, 1797) (COLEOPTERA : TENEBRIONIDAE).

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

**Dr Oliver. Rougeaux. 20 avril 2014.** Infectiologue, Center hospitalier de Chambéry, France.

### E

**E. fortier 2003.** La culture de la mure de cubec. Université Laval. Département pathologie. Québec. P : 33.

**Eberhard T, Robert A, Annelise L. (2005).** Plantes aromatiques, épices aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France.

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

**El Babili, F., Nicole, L-M., Caroline, V., Romain L., Arthur, H. (2020).** « ICH Validation of DPPH Assay Method: Some Interesting Medicinal Drugs ». 6(2), p : 44,50

**Emmanuelle, B et El Amari. (2004).** Traitement et pronostic des Bactériémies à Pseudomonas aeruginosa. Thèse n° 10406. Thèse présentée à la Faculté de Médecine De l'Université de Genève pour obtenir le grade de docteur en médecine

### F

**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

**Floret, N., Bertrand, X., Thouverez, M., & Talon, D. (2009).** Infections nosocomiales à Pseudomonas aeruginosa: origine exogène ou endogène de la bactérie responsable?. Pathologie Biologie, 57(1) p: 9-12.

**Folta, K. M., & Gardiner, S. E. (2009).** Genetics and genomics of Rosaceae. New York : Springer, vol (6), p : 411-506.

**Forman, H., Zhang, H. (2021).** Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. California (USA): Nature Reviews | Drug Discovery. Vol (20), p: 689-709.

### G

**Georgé, S., Brat, P., Alter, P. et Amiot, M. J. (2005).** Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. Journal of Agricultural and food chemistry, 53(5), p : 1370-1373

**Gonzlez-Obando, R., Caldern-Martnez, N. R., and Carrejo-Gironza, N. S. (2023).** New species of Myopsocidae (Insecta: Psocodea: Psocoptera) from Colombia. *Zootaxa*, 5377(1), p : 1-61.

**Grünwald, J., & Jänicke, C. (2006).** Guide de la phytothérapie. Marabout.

**Gueye, A, C. diome, T. thiaw, C. semene. (2015).** Évolution des paramètres biodémographiques des populations de *Tribolium castaneum* h. (Coleoptera, Tenebrionidae) inféodé dans le mil (*Pennisetum glaucum* leek) et le maïs (*Zea mays* l.) *journal of applied biosciences* 90 p : 83553 8360

### H

**Hajam, YA, Rani R, Ganie S Y, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS, Pramodh S, Alsulimani A, Alkhanani, MF, Harakeh S, Hussain A, Haque S, Reshi MS (2022).** Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells*. 11(3) : p :552

**Hami M., Taibi F., Smaghe 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

**Hammache, S., and Cherrou, K. (2023).** L'IMPORTANCE DU FINANCEMENT BANCAIRE POUR LE DEVELOPPEMENT DU SECTEUR AGRICOLE EN ALGERIE : APPROCHE PAR LE MODELE ARDL (1990-2021). *Marketing and business research review*, 3(1), p : 97-108.

**Haoulia A., 2015.** Tests phytochimiques, dosage et recherche d'effet hémolytique des polyphénols totaux extrait de la partie aérienne d'*Ammoidesverticillata* 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

**Hummer, K. (2010).** *Rubus* Pharmacology. Antiquity to the Present, 45(11), p :1587-1591

### I

**Iserin, P. (2001).** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales, Edition

### J

**Jean –Yves, CH. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de Doctorat en pharmacie, Université Henri Poincare Nancy 1, France. p : 172

### K

**KARAHACANE, T., (2015).** Activité insecticide des extraits de quelques plantes cultivées et spontanées sur les insectes du blé en post récolte. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques : Ecole Nationale Supérieure Agronomique, p : 6

**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

**Kedare, S. B. et Singh, R. P. (2011).** Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J. Food Sci. Technol*, 48 (4), p: 412–422.

**Khosravi, A. D., Hoveizavi, H., Mohammadian, A., Farahani, A., & Jenabi, A. (2016).** Genotyping of multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn and wound infections by ERIC-PCR. *Acta cirurgica brasileira*, 31(3), p: 206-211

### L

**Lim T. K. (2012).** *Edible Medicinal and Nomo-Medicinal Plants*. Springer. 4 p : 544-554

### M

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

**Makkar, H.P.S. (2000).**"In Quantification of tannins in tree foliage" Working document, FAO/IAEA, Vienn

**Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E. et Kefalas, P. (2005).** Phenolic profile and anti-oxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*); *Food Chemistry*.vol (89), p : 411-420

### N

**Nabila BOUGANDOURA \*, Nassima BENDIMERAD\* (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta* (L.) *Revue « Nature & Technologie »*. B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09. p 14 - 19

**Nauciel Charles et Louis Vildé Jean, (2005).** *Livre de Bactériologie médicale Staphylococcus aureus*. 2èmeEd. Masson, Paris. P: 5, 10, 77,141

### P

**Pacôme Serge Gouegoui Bohui 1\*, Augustin Amissa Adima1, Florence Bobelé Niamké1 , Jean David N'Guessan2., (2018).** Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava* Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

**Pantel, A. (2015).** Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques et modulation de l'influx et de l'efflux membranaires chez *Escherichia coli* ST131, thèse de doctorat, université de Montpellier, p : 244

**Pesttrak, M. J., & Wozniak, D. J. (2020).** Regulation of Cyclic di-GMP Signaling in *Pseudomonas aeruginosa*. In *Microbial Cyclic Di-Nucleotide Signaling* (p : 471-486). Springer, Cham.

**PRESCRIRE., (2007).** Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial été, T.27, p : 286

### R

**Rabah TABTI, 2024** De la protection de l'environnement dans les Constitutions Algeriennes Université Mouloud MAMMERI vol.57

**Rameshwar Verma, Tushar Gangrade, Rakesh Punasiya, Chetan Ghulaxe, 2014** *Rubus fruticosus* (blackberry) use as an herbal medicine 8(16), p : 102-103

**RED FLOUR, B., (2023).** TRIBOLIUM CASTANEUM (HERBST): BIOLOGY AND MANAGEMENT Mukesh Kumar Chaubey 8(2).

**ROBINSON, W. H. (2005).** Urban Insects and Arachids: A Handbook of Urban Entomology. Cambridge: Cambridge University press. p: 472

### S

**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

**Soussy, C., Carret G., Cavallo J., Chardon H., Chidiac C., Choutet P. (2000)** Antibioqram Committee of the French Microbiology Society. Report. Pathol Biol (Paris) ; 48(9), p :832–71.

**SShallcross LJ, Fragaszy E, Johnson AM, Hayward AC (2013).** The role of the Pantone-Valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta- analysis. Lancet Infect Dis ; vol (13), p : 43–54.

**Sun, B., Richardo-da-Silvia, JM. et Spranger, I. (1998).** "Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins" J. of Agriculture and Food Chemistry Vol. (46), p: 4267

### T

**Tânia AT Gomes, Waldir P Elias, Isabel CA Scaletsky, Beatriz EC Guth, Juliana F Rodrigues, Roxane MF Piazza, Luís Ferreira, Marina B; (2016).** Martinezbrazilian journal of microbiology 47, p: 3-30

**Taruvinga, C., Mejia, D., & Sanz Alvarez, J. (2014).** Systèmes appropriés de stockage des semences et des grains pour les agriculteurs à petite échelle : pratiques clés pour les praticiens de la RRC

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

**Toty A., Guessennd N., Bahi C., Kra A., Otokore D and Dosso M, (2013).** Évaluation invitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de Harungana madagascariensis sur la croissance de souches multi-résistante. Bulletin de la Société Royale Des Sciences de Liège, p: 12-21.

### W

**Weihui wu; Yongxin Jin, franc Bai, Shouguang Jin. (2015).** Molecular microbiology, 753-

**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. Ed. TEC & DOC, p: 692

### Z

**ZIANI.B.,2017** Extraits de douze plantes médicinales poussant en Algérie : Etude phytochimique, activité biologique et essai d'incorporation des extraits de deux plantes dans une huile

d'olive these de DOCTORAT en Sciences Agronomiques Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach – Alger

**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

**Zibouche, M et Grimes C. (2016).** Contribution à l'étude des flavonoïdes et de l'activité antioxydant de l'orge : *Hordeum vulgare*. Constantine. University des Frères Mentouri Constantine. P; 25