

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE
ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire: Biologie moléculaire des
procaryotes

**Thème : Analyse phytochimique et activité antibactérienne
d'extraits bruts de *Satureja calamintha L.* et *Artemisia herba alba L.***

Présenté par :- *Badaoui Fadia*

-Douaouria Meriem

-Haiahem Imen

Devant le jury:

Président : *M^{elle} Grara N.*

M.C.A.Univ.8 mai 1945/Guelma

Examineur: *M^{elle} Amri S.*

M.A.A.Univ.8mai1945/ Guelma

Encadreur : *M^{elle} Khenaka K.*

M.A.B.Univ.8mai1945/ Guelma

Juin 2013

Remerciements

La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage

Avant toute chose, nous remercions dieu de nous avoir accordé des connaissances et de la science, et de nous avoir aidé pour réaliser ce travail.

Nous exprimons d'abord notre profond remerciement et nos vives reconnaissances à Melle Khenaka Karima. Pour avoir accepté d'encadrer. Qu'elle trouve ici mes sentiments de gratitude et de déférence.

Nous remercions également Melle GEURARA N. Maitre de conférence à l'université 8 mai 45 Guelma, d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury.

Nous remercions le jury qui nous a fait l'honneur de participer.

Nous exprimons nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance aux techniciennes du laboratoire de microbiologie. Biochimie et immunologie.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Fadia , Meriem et Imen

Dédicace

A ma famille et surtout ma mère,

Pour leurs mains qui ont tant travaillées,

Pour leur cœur qui m'a tant donné

Pour leur sourire qui m'a tant réchauffé,

Pour leurs yeux qui furent parfois mouillés,

A mon frère: Salim.

A mes chères sœurs. Chacune en son nom.

A mes neveux et nièces.

A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université: Radja, Houria, Assia, Sans oublier : Poukou ,

A mes amies de la promotion de master : Zeyneb, , Nabila ,

A tous qui me connaissent de près ou de loin.

Mes pensées vont à tous ceux qui sont loin de mes yeux mais resteront à jamais dans mon cœur «papaaaaa» allahyarhamek papa laaziz.

Doudou

Dédicace

A mes parents,

Pour vos mains qui ont tant travaillées,

Pour votre coeur qui m'a tant donné

Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé,

Pour vos yeux qui furent parfois mouillés,

Pour vous qui m'avez tant aimé.

A mes frères: Samir, Zinou .

A mes soeurs .

A mes neveux et nièces.

A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université: Assia, Sans oublier Doudoua et Wardoucha.

A mes amies et amis de la promotion de master.

A tous qui me connaisse de près ou de loin.

Mes pensées vont à tous ceux qui sont loin de mes yeux mais resteront à jamais dans mon coeur «jeddddli».

Dédicace

A mes parents,

Pour vos mains qui ont tant travaillées,

Pour votre coeur qui m'a tant donné

Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé,

Pour vos yeux qui furent parfois mouillés,

Pour vous qui m'avez tant aimé.

A mes chers sœurs : Lamia, Ahleeeeeeeeeeeeeeeeeem

A mes frères : Moukhtarlaaziz, et bien sûr Djamel (Bsayla)

A ma nièce : Soundous Chems Annahar

A mes meilleurs amies : Doudouaaa, Manou et bien sûr Nourine Poukou

A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université : Houria, Assia, Zeyneb.

A mes amis de promotion de master : Youssef Hakou, Daninou.

Mes pensées vont à tous ceux qui sont loin de mes yeux mais resteront à jamais dans mon coeur «mamafulla».

A tous qui me connaissent de près ou de loin

Warda

Liste des abréviations

ATB Antibiotique

ADN Acide désoxyribonucléique

PLP protéines liant les pénicillines

HE Les huiles essentielles

PH Potentiel hydrogène

Na₂CO₃ Carbonate de sodium

PVPP Polyvinylpolypyrrolidone

AlCl₃ Trichlorure d'aluminium

MH Mueller Hinton

Na Cl Chlorure de sodium

GN Gélose nutritive

Liste des figures	pages
Figure1 Les principaux mécanismes de résistances aux antibiotiques	04
Figure2 Les relations métaboliques entre les principales classes de métabolites secondaires.	06
Figure 3 Structure de la molécule d'isoprène	07
Figure 4. Structure de quelques sesquiterpènes	08
Figure 5. Structure de quelques terpénoïdes	08
Figure 6. Structure de quelques composés aromatiques	08
Figure 7. Structure d'un flavonoïde	10
Figure 8. Schéma simplifié de la biosynthèse de différentes classes de flavonoïdes.....	11
Figure 9. Structure d'un tanin hydrolysable	14
Figure 10. Structure d'un tanin condensé	15
Figure 11. Principaux squelettes stéroïdiques	16
Figure 12 . Principaux squelettes triterpéniques	17
Figure 13. La plante <i>Satureja calamintha L.</i>	19
Figure 14. La plante d' <i>Artemesia herba alba.</i>	20
Figure 15. Schéma représentatif de la méthode des puits.....	25
Figure 16. Schéma représentatif de la méthode de micro-atmosphère.....	26
Figure 17 . Diamètres d'inhibition des extraits de plantes vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> respectivement.....	33

Liste des tableaux

pages

Tableau 1. Résultats des tests de détection des saponosides	27
Tableau 2. Analyse phytochimique des extraits bruts de <i>Satureja calamintha</i> et <i>Artemisia herba alba</i>	30
Tableau 3. Valeurs des diamètres d'inhibition des antibiotiques testées vis-à-vis les trois espèces bactériennes.	32
Tableau 4. Diamètres et pourcentages d'inhibition des souches tests par les extraits de <i>Satureja calamintha</i> et <i>Artemisia herba alba</i>	34

Table des matières

Introduction	1
Revue bibliographique	
I- Les antibiotiques.....	2
1- Définition.....	2
2- Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action.....	2
2-1-Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane.....	2
2-2-Antibiotiques inhibent la synthèse protéique.....	2
2-3-Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques.....	3
2-4 -Antibiotiques agissant sur les membranes.....	3
3-La résistance bactérienne aux ATBs.....	3
3-1-Les principaux mécanismes de la résistance bactérienne.....	3
3-1-1- La résistance par inactivation enzymatique.....	4
3-1-2-La résistance par modification de cible.....	4
3-1-3 La résistance par diminution de perméabilité.....	5
II- Métabolites secondaires de plantes.....	5
1-Les huiles essentielles.....	6
1-1- Définition.....	6
1-2-Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	7
1-3-La composition chimique des huiles essentiels.....	7
1-3-1- Les terpènes.....	7
1-3-2- Composés aromatiques.....	8
1-4-Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles.....	9
2-Les polyphénols.....	9
2-1-les flavonoïdes.....	10

2-1-1-Définition	10
2-1-2-Biosynthèses des flavonoïdes	10
2-1-3- Classification des flavonoïdes.....	11
2-1-4-Propriétés physico-chimiques des flavonoïdes.....	12
2-1-5Activité antibactérienne des flavonoïdes.....	12
2-2-Les tanins.....	13
2-2-1- Définition.....	13
2-2-2Classification des tanins.....	14
2-2-3Propriétés physico-chimiques des tanins.....	15
2-2-4-Activité antibactérienne des tanins	16
2-3-Les saponines.....	16
2-3-1-Définition.....	16
2-3-2-Classifications des saponines.....	16
2-3-3-Propriétés physico-chimique des saponines.....	17
2-3-4-Activité antibactérienne des saponines.....	17
3-Les alcaloïdes.....	18
3-1-Définition.....	18
3-2- Classification des alcaloïdes.....	18

Matériel et Méthodes

1- Préparation des extraits bruts.....	19
1-1 Les plantes utilisées pour l'extraction.....	19
1-1-1-La plante Satureja calamintha L.....	19
1-1-2- La plante Artemisia herba alba.....	19
1-2 Préparation des extraits bruts.....	20
2- Etude phytochimique des extraits bruts.....	20
2-1 Mise en évidence de la présence des saponines.....	20
2-2- Dosage des phénols totaux.....	21

2-3-Dosage des phénols simples et des tanins totaux.....	21
2-4-Dosage des tanins condensés.....	21
3- Etude microbiologique.....	22
3-1 Les espèces bactériennes étudiées.....	22
3- 2 Milieux de culture utilisés.....	23
3-3 Etude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques (Antibiogramme)....	23
3-4 Etude de l'activité antibactérienne.....	24
4-Analyse statistique.....	26

Résultats et discussion

1-Etude phytochimique	27
1-1 mise en évidence de la présence des saponosides.....	27
1-2-La teneur des extraits en phénols totaux et en phénols simples	28
1-3 La teneur des extraits en tanins totaux et tanins condensés	29
1-4 La teneur des extraits en flavonoïdes.....	31
2-Etude microbiologique.....	31
2-1-Sensibilité des souches aux antibiotiques.....	31
2-2 Etude de l'activité antibactérienne des extraits bruts.....	32

Conclusion	35
-------------------------	----

Références

bibliographique	36
------------------------------	----

Annexes

Résumé

Introduction

Les plantes occupent une place prépondérante dans la vie de l'Homme. Toutes les civilisations connues ont utilisé les plantes soit sauvages soit cultivées en plusieurs domaines, principalement comme remède à plusieurs maladies telle que les maladies infectieuses d'origine microbienne [1].

L'évaluation des propriétés phyto-thérapeutiques comme antimicrobien, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues dans la médecine traditionnelle, car, ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. De même, l'évaluation des plantes déjà étudiée peut être intéressante en changeant les techniques d'étude comme les techniques d'extraction [2].

En effet, les métabolites secondaires de plantes font et reste l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels les composés phénoliques (tanins, flavonoïdes,...), les saponosides, les alcaloïdes, les huiles essentielles,... [2].

La plupart de ces molécules sont très intéressantes comme des agents antimicrobiens, de ce fait, l'étude qualitative et quantitative d'extraits qui contiennent l'ensemble de ces molécules en variant les solvants d'extraction demeure un pas très intéressants vers l'évaluation et la recherche de nouvelles molécules.

C'est dans ce cadre que ce travail est effectué. Les plantes étudiées sont *Satureja calamintha* qui est une plante moins connues dans la médecine traditionnelle et *Artemisia herba alba* qui est une plante très étudiée en thérapie traditionnelle, et qui est choisie pour l'étude de ses extraits bruts variables selon le solvant. La stratégie d'étude de ce travail peut être divisée en deux grands volets, le premier représente une étude phytochimique des extraits bruts de plantes en analysant principalement les différents types de composés phénoliques, le deuxième représente l'évaluation de l'activité antibactérienne de ces extraits vis-à-vis trois espèces bactériennes isolées au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Ibn Zohrde la wilaya de Guelma, il s'agit de deux bactéries à Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*) et une à Gram positif (*Staphylococcus aureus*).

Revue
Bibliographique

I. Les antibiotiques

1- Définition

Les antibiotiques(ATB) sont des substances chimiques organiques, produites par un petit nombre de microorganismes ou issus de la synthèse chimique et exerçant à faible dose une action toxique envers d'autres microorganismes [3].

2- Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action

Les ATBs sont classés en familles, selon leur structure chimique, leur origine ou leur mode d'action.

Selon leur structure chimique, les ATBs sont classés en : Bêta-lactamines (pénicillines et céphalosporines), Glycopeptides, Aminosides, Tétracyclines, Sulfamides, Polymyxines et Quinolones.

Selon leur mode d'action, les ATBs sont classés en :

2-1-Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

Les bactéries sont entourées d'une paroi contenant une couche plus ou moins épaisse de peptidoglycane, ce polymère est constitué de chaînes glucidiques reliées par des ponts peptidiques. Plusieurs types d'ATBs ont comme cibles des enzymes intervenant dans la synthèse de cette couche. Les bêta lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et monobactames) peuvent inhiber la transpeptidase qui catalyse la liaison entre le sucre et le peptide pour former le peptidoglycane. Les glycopeptides (vancomycine) inhibent également la synthèse du peptidoglycane, mais par un mécanisme différent, ils peuvent former des liaisons avec la D-alanine en empêchant ainsi, les étapes de transglycosylation et de transpeptidation nécessaires à la synthèse du peptidoglycane [4].

2-2-Antibiotiques inhibent la synthèse protéique

Plusieurs familles d'ATBs peuvent inhiber, par différents mécanismes, l'élongation de la chaîne polypeptidique chez les bactéries. Les familles d'ATBs les plus connus pour cet effet sont : les tétracyclines, les aminosides, les chloramphénicol et les macrolides [6].

2-3-Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

Ces ATBs appartenant aux familles suivantes : Les sulfamides, les quinolones et les Rifamycines.

- ✚ **Les quinolones** : ils interfèrent dans la synthèse d'acide désoxyribonucléique (ADN), l'ADN en inhibant les ADN gyrases .
- ✚ **Les sulfamides** : ils agissent sur la synthèse de l'acide folinique, un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques qui sont incorporées dans la synthèse des acides nucléiques [5].

2-4 -Antibiotiques agissant sur les membranes

La famille d'ATB la plus connu pour cette action est les polymixines, ces ATBs peuvent se fixer sur les membranes bactériennes (en particulier la membrane externe des bactéries à Gram négatif) et les désorganisent. L'ATB le plus utilisé est la colistine, elle n'agit que sur les bacilles à Gram négatif, cependant, elle est inactive contre *Proteus*, *Providencia* et *Serratia* [6].

3-La résistance bactérienne aux Antibiotiques

La résistance bactérienne aux ATBs est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et la dissémination des souches multi-résistantes.

La résistance bactérienne aux ATBs se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique [7].

3-1-Les principaux mécanismes de la résistance bactérienne

Les principaux mécanismes élucidés à ce jour sont principalement, l'inactivation enzymatique, la modification de la cible de l'antibiotique, la diminution de la perméabilité de la paroi bactérienne et la mise en place ou la multiplication de systèmes d'efflux (figure1) [6].

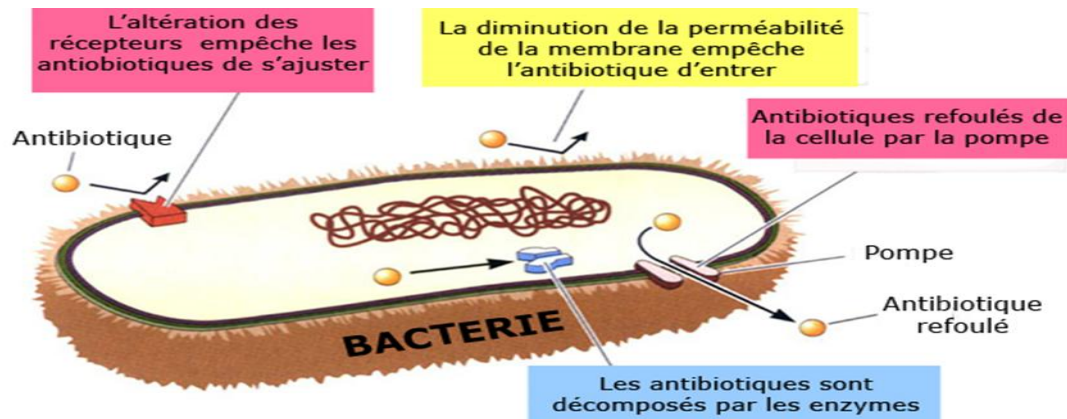


Figure 1. Les principaux mécanismes de résistances aux antibiotiques [70]

3-1-1-La résistance par inactivation enzymatique

Certaines bactéries peuvent produire des enzymes capables de modifier ou de dégrader les ATBs. Les principales enzymes produites par les bactéries sont les β -lactamases.

Les β -lactamases catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse de la liaison amide du cycle β -lactame donnant un produit biologiquement inactif qui perd totalement son activité antimicrobienne. La production des β -lactamases est le mécanisme de résistance le plus répandu, Plus de 290 types de β -lactamases sont décrites [9].

3-1-2-La résistance par modification de cible

- **Modification des protéines liant les pénicillines (PLP)**

Chez *Staphylococcus aureus*, la résistance à la méticilline est due à la présence d'une PLP ayant une faible affinité pour les β -lactamines. Elle est due à l'acquisition du gène chromosomique *mecA* [6].

- **Modification du précurseur du peptidoglycane**

La résistance consiste au remplacement de l'acide aminé D-Alanine terminal du précurseur du peptidoglycane, par un groupement lactate avec pour conséquence de rendre les glycopeptides moins actifs [6].

3-1-3-La résistance par diminution de perméabilité

Ce mécanisme de résistance se procède soit par l'intermédiaire de mutations de porines des bactéries à Gram négatif, soit par l'intermédiaire de mutations au niveau de systèmes de transport de l'ATB [6].

II. Métabolites secondaires de plantes

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites: les métabolites primaires et les métabolites secondaires [10].

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante [10]. La figure 2 résume les relations métaboliques entre les principales classes de métabolites secondaires.

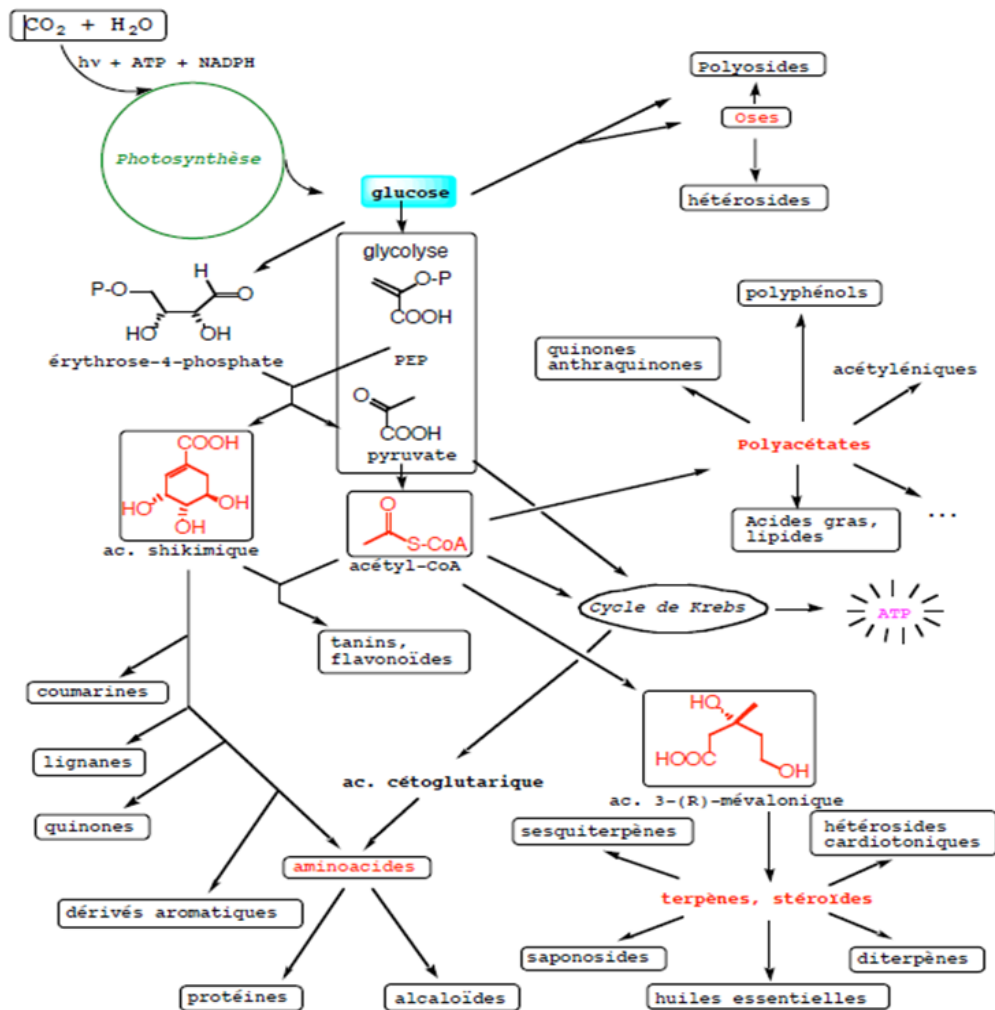


Figure2. Les relations métaboliques entre les principales classes de métabolites secondaires [11].

1-Les huiles essentielles

1-1- Définition

Les huiles essentielles (HE), connues aussi sous le nom de huiles étherées ou essences aromatiques, sont des substances liquides ou, plus rarement, semi solides, ayant des odeurs aromatiques et parfumées, parfois aussi de saveur agréable [12].

En général, le principe aromatique des plantes est des gouttes minuscules qui se forment dans les chloroplastes des feuilles, c'est à dire les organites dans lesquelles s'effectue la photosynthèse. Elle se combine par la suite avec du glucose et sont transportées dans toutes les parties de la plante. Une HE est donc une sécrétion naturelle

qui s'effectue dans une partie du corps végétal : feuilles, écorce, fruits, graines, racines ou fleurs [13].

1-2-Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les HE sont généralement incolores ou jaune pâle, liquide à température ordinaire, volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1, seules trois HE ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HE de cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), de girofle (*Syzygnm aromaticum*) et de saffran (*Sassafras albidum*). Elles sont solubles dans les solvants ainsi que dans les huiles et la vaseline, mais pas dans l'eau, très altérables, elles s'oxydent au contact de l'air et de la lumière [14].

1-3-La composition chimique des huiles essentielles

Les HE sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes [15].

1-3-1-Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette des unités isoprène à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (figure 3) [14].

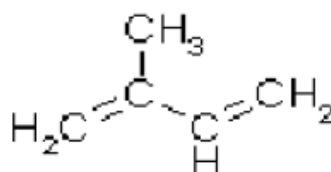


Figure 3. Structure de la molécule d'isoprène [16].

Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en : **monoterpènes** formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), **sesquiterpènes** formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$) (figure 4), **diterpènes** formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$), **tétraterpènes** formés de huit isoprènes et

polyterpènes $(C_5H_8)_n$ avec n situé entre 9 et 30[14].

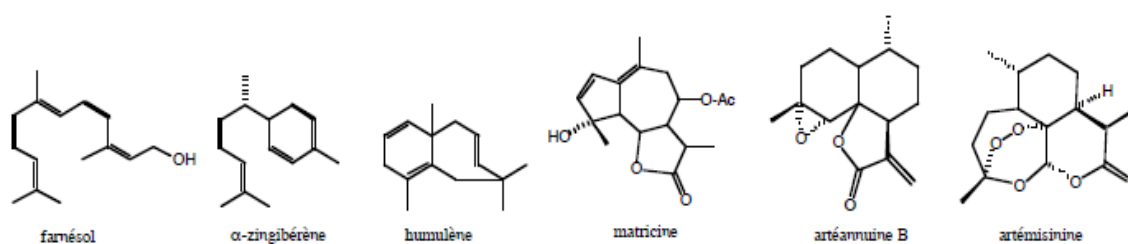


Figure 4. Structure de quelques sesquiterpènes [11].

Les terpénoïdes représentent un groupe des terpènes, en plus de l'unité de base d'isoprène, ils contiennent une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide,...) (figure5) [14].

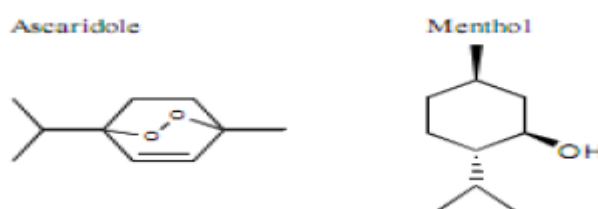


Figure5. Structure de quelques terpénoïdes [14].

1.3.2. Composés aromatiques

Les dérivés du phenylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes [14], cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, et d'autre. Ils sont plus fréquents dans les HE d'Apiaceae (le persil, l'anis, le fenouil, etc.), ils sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc (figure 6) [15].

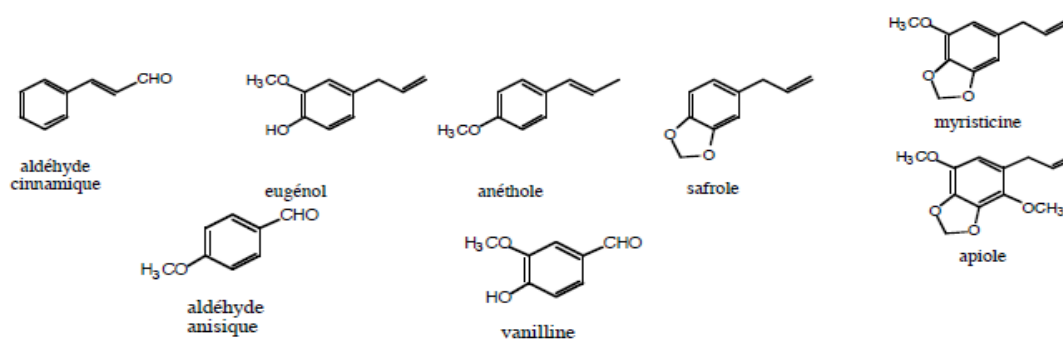


Figure6. Structure de quelques composés aromatiques [15].

1-4-Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles

Les HE peuvent rendre stérile une culture de microbe. Plusieurs études ont montrés que les HE sont capables d'inhiber la croissance de plusieurs microorganismes, tels que, les staphylocoques, le bacille de koch (responsable de la tuberculose) et le bacille typhique (responsable de la typhoïde) [13].

Les HE peuvent avoir une double action contre les microbes, elles peuvent les tuer (effet bactéricide) ou arrêter leur prolifération (effet bactériostatique). Les HE les plus actives contiennent principalement des phénols [13].

2-Les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, dès les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas des fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance et la production [17].

L'expression de « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles. Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central, par la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique [18].

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulier [17].

On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base, on peut ainsi définir : les flavonoïdes, les tannins, etc.

2-1-les flavonoïdes

2-1-1-Définition

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des végétaux. Ils constituent un des plus vastes groupes de polyphénols naturels et présentent un large champ d'activité biologique aussi bien chez les animaux que chez les végétaux [19]. Ce sont des substances colorées et sont responsables de la coloration de nombreux fruits, légumes, fleurs, [20] ...

Biochimiquement, les flavonoïdes appartiennent à la famille des benzopyrones, la sous-classe des gamma-benzopyrones (figure7) [20].

Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs, selon le type de l'espèce ils peuvent se trouver dans : les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, le pollen, les fruits, les graines, le bois...[20].

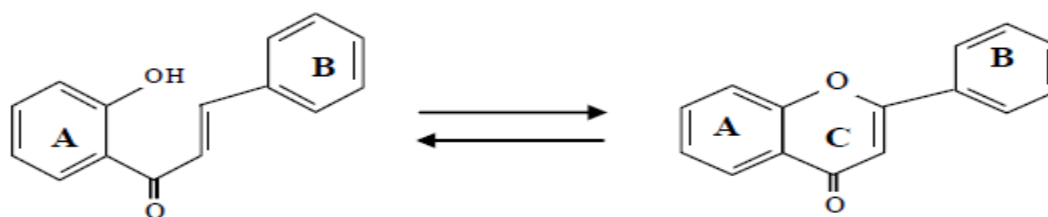


Figure7.Structure d'un flavonoïde [21].

2-1-2-Biosynthèses des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone. Ce dernier est constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaînes en trois carbones, on parle alors de chalcones. Ces dernières représentent le précurseur commun de tous les autres flavonoïdes. La chalcone est métabolisée sous l'action de la chalcone isomérase en flavanone. Toutes les voies métaboliques intervenant dans la biosynthèse des flavonoïdes sont simplifiées dans la figure 8 [22].

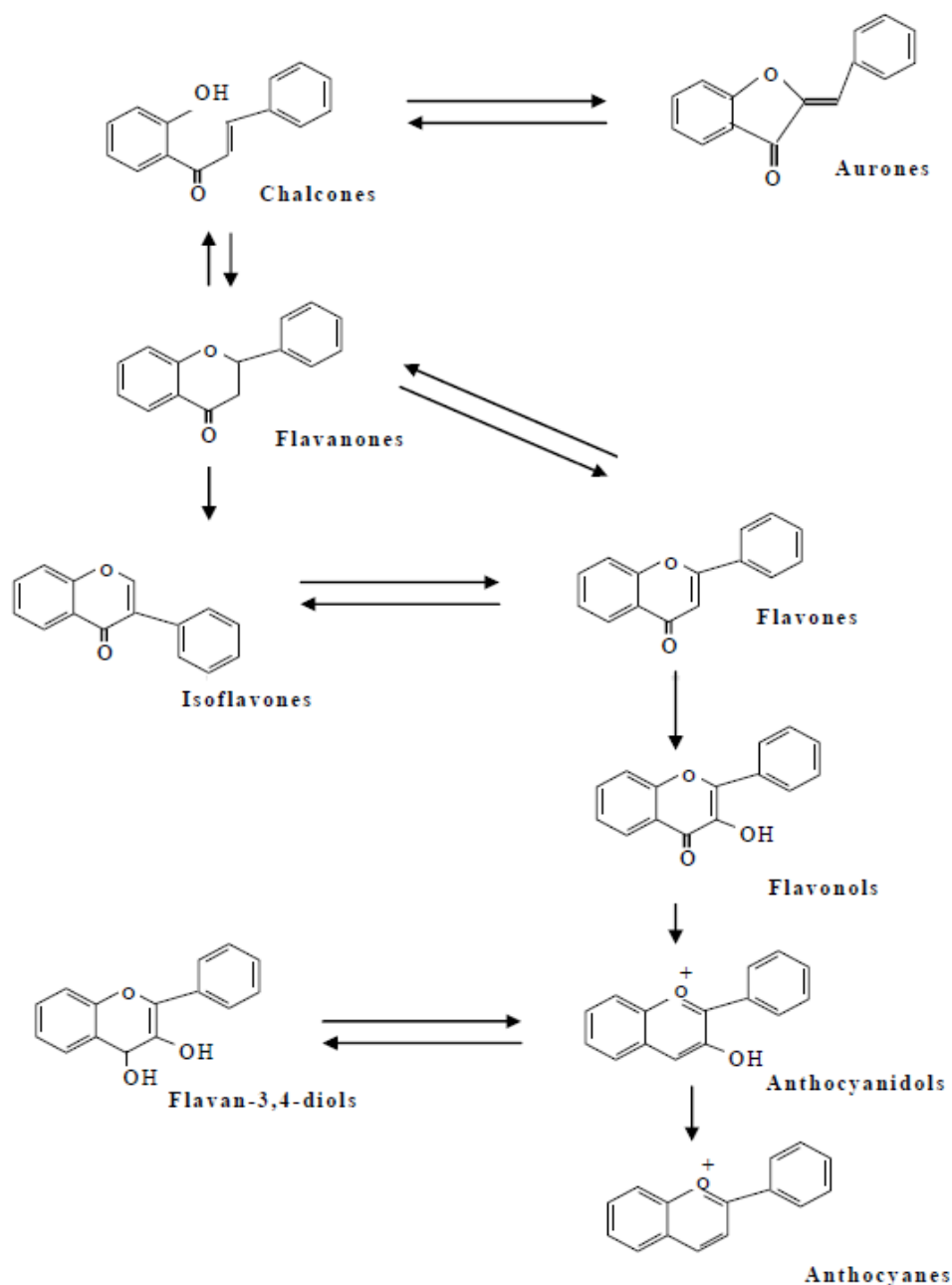


Figure8. Schéma simplifié de la biosynthèse de différentes classes de flavonoïdes [21].

2-1-3- Classification des flavonoïdes

Les principaux groupes de flavonoïdes peuvent être définis et différenciés comme suit :

➤ Flavones et flavonols

Le cycle A de ces deux types de molécules est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C5 et en C7. Ces hydroxyles peuvent être libres ou estérifiés. D'autre part, le cycle B est substitué en C4' ou di-substitué en C3' et C4' par des groupements OH ou méthoxyles (OCH₃). Les flavonols se distinguent des flavones par un OH en C3 [23].

➤ **Flavanones et hydroflavonols**

Ils se caractérisent par l'absence de la double liaison entre le C2 et le C3 et par la présence des centres d'asymétrie. Les variations structurales sont ici de même nature que celles décrites pour les flavones et les flavonols. Les dihydroflavonols se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C3 [23].

➤ **Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols**

Ces molécules sont toujours hydroxylées en C3 et se caractérisent par l'absence du groupe carboxyle en C4. Cette position peut être libre (flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (flavan-3,4-diols). Les anthocyanosides sont caractérisées par l'engagement de l'OH en C3 dans une liaison hétérosidique [24].

➤ **Chalcones**

Les chalcones ont un noyau pyranique central ouvert et sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique et insaturée. Le noyau B est assez fréquemment non substitué [22].

2-1-4- Propriétés physico-chimiques des flavonoïdes

Plusieurs travaux ont été réalisés sur les propriétés des flavonoïdes vu leur grand intérêt pour la santé. Parmi les propriétés physico-chimiques les plus importantes, elle figure la solubilité et la stabilité [25].

➤ **Solubilité des flavonoïdes**

La solubilité des flavonoïdes dépend, en grande partie, de la nature et du nombre de substituant : plus le nombre d'hydroxyles libres est élevé, plus ils sont solubles dans les solvants polaires et vis- versa [26]. Si en règle générale, les hétérosides sont solubles dans les alcools et l'eau, un certain nombre d'entre eux ont une solubilité peu marquée (rutoside, hespéridoside) [27].

➤ **Stabilité des flavonoïdes**

L'importante réactivité des flavonoïdes donne à ces molécules une instabilité à plusieurs conditions environnantes [25].

▪ **Paramètres affectant la stabilité des flavonoïdes**

Les paramètres qui peuvent agir sur la stabilité des flavonoïdes sont la lumière, le potentiel hydrogène (pH), la température, la nature du solvant, ainsi que la présence d'enzyme, d'ion

métallique et d'oxydant. De ce fait, une élévation de la température et du pH, la présence d'ions métalliques favorisent la dégradation des flavonoïdes [25].

▪ ***Autoxydation des flavonoïdes***

Les cinétiques et les mécanismes d'oxygénation des flavonoïdes ont été étudiés par plusieurs auteurs. Cependant, le pH, la présence d'ion métallique et de borate affectent l'autoxydation de la catéchine en milieu aqueux. Les produits formés au cours de l'autoxydation sont très variables mettant en évidence des voies de dégradation différentes selon la nature du flavonoïde et des conditions de conservation [25].

2-1-5-Activité antibactérienne des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire [28].

L'action inhibitrice des flavonoïdes sur la croissance bactérienne. Ils ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempférol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ...) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*...) [29].

2-2-Les tanins

2-2-1-Définition

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir. Les tanins représentent un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Ils sont des molécules fortement hydroxylés et ils peuvent former des complexes insolubles en association avec les glucides et les protéines [30].

2-2-2- Classification des tanins

Selon leur structure, les tanins sont classés en :

➤ **Tanins hydrolysables**

Ces tanins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle, ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexa

hydroxydiphénique. Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (figure9) [31].

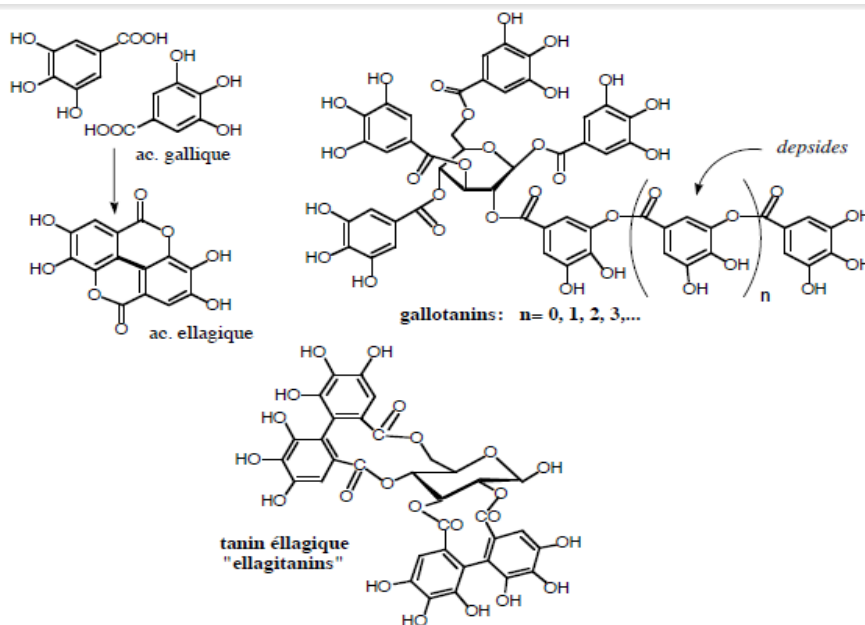


Figure 9. Ester des acides galliques et éllagiques [11]

➤ Tanins condensés

Appelés aussi pro anthocyanidines ou procyanidines, les tanins condensés sont des polyphénols de masse molaire élevées. Ils résultent de la polymérisation auto oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et ils se nomment ainsi pro anthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les pro anthocyanidines sont dits de types A. la **figure10** représente le modèle de structure d'un tanin [32].

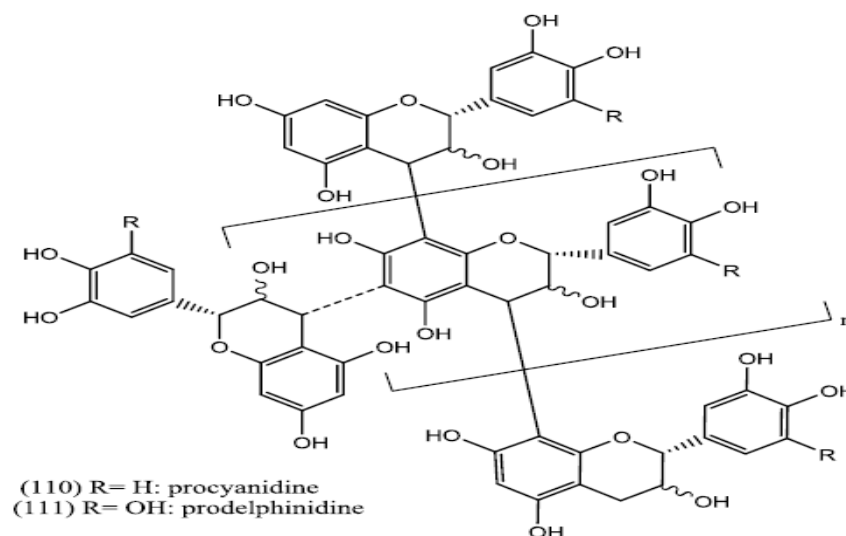


Figure10 .Structure d'un tannin condensé [32].

2-2-3- Propriétés physico-chimiques des tanins

➤ Solubilité des tanins

La solubilité des tanins dans l'eau dépend de leur poids moléculaire et de leur degré de polymérisation. [33] Les tanins sont également solubles dans l'acétone et les alcools. C'est pour cette raison que l'extraction des tannins est généralement réalisée par une solution acétone-eau ou méthanol-eau [34].

➤ Liaisons aux protéines

Les tanins se fixent à la quasi-totalité des protéines formant ainsi des complexes insolubles à pH physiologique (pH=7,4). En plus de la formation de ces complexes, les tanins peuvent établir des «ponts» entre les protéines. La nature de complexes formés entre les tanins et les protéines dépend de la nature chimique, de la structure et de la configuration tridimensionnelle des deux molécules impliquées. D'autre part, cette liaison est étroitement dépendante des conditions du milieu, tels que, le pH, la température, la force ionique et la présence de molécules compétitives [35].

➤ Liaison aux acides nucléiques

Les tannins peuvent également former des complexes avec les acides nucléiques, plusieurs études ont montré que les dérivés de l'acide tannique peuvent former des liaisons avec l'ADN induisant ainsi des modifications conformationnelles [36].

2-2-4 Activité antibactérienne des tanins

Les tanins ont une action antibactérienne puissante leur permettant d'inhiber la croissance de plusieurs types de microorganismes. L'inhibition microbienne par les tanins dépend de la structure et le degré de polymérisation de ces derniers [37].

2-3-Les saponines

2-3-1-Définition

Le nom saponine dérive du mot latin « sapo », qui signifie savon, car ces composés peuvent former une mousse persistante une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou à plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur aspect moussant en solution aqueuse [38].

Les saponines sont des métabolites secondaires hétérosidique présents dans de nombreuses plantes et quelques organismes marins ou ils auraient un rôle de défense contre des agents pathogènes (champignons, bactéries...) [38].

2-3-2-Classifications des saponines

Les saponines sont des molécules possédant une partie hydrophile constituée d'oses et une partie lipophiles communément appelé génine (aglycone ou sapogénine). Ces hétérosides classées en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdiques, soit triterpénique [39].

➤ Les saponines stéroïdiques

Les saponines stéroïdiques sont pour la plus part présents chez les Angiospermes Monocotylédones et rarement chez les Dicotylédones. Leur génine, dont plus d'une centaine est connue, est constitué d'un squelette à 27 atomes de carbone. Deux principaux types existent, hexacyclique (spirostane) ou pentacyclique (furostane) (figure 11) [39].

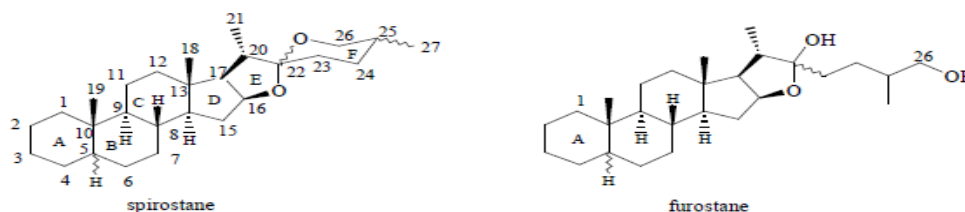


Figure 11. Principaux squelettes stéroïdiques [39].

➤ Les saponines triterpéniques

Les saponines triterpéniques sont principalement trouvées chez les Angiospermes Dicotylédones. Leurs génines sont à 30 atomes de carbone et elles sont soit tétracyclique, soit pentacyclique (figure12) [39].

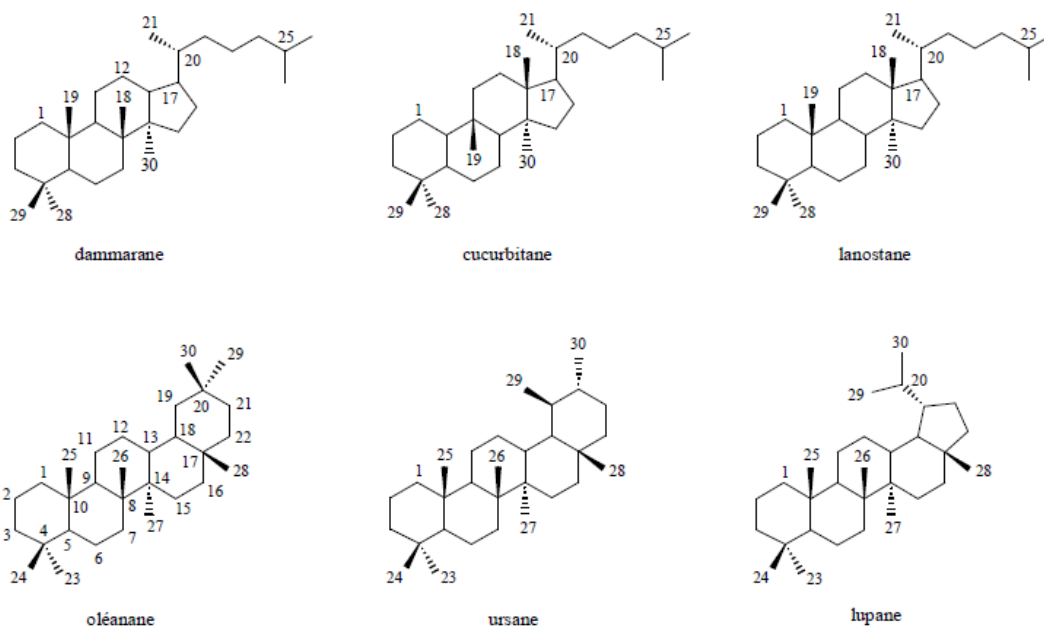


Figure12.Principaux squelettes triterpéniques [39].

2-3-3-Propriétés physico-chimique des saponines

Les saponines possèdent un ensemble de propriétés physico-chimiques qui nous facilitent leur caractérisation, éventuellement, le pouvoir aphrogène, l'action hémolytique et la saveur âcre. Ils se trouvent sous forme amorphe et sont solubles dans les solvants organiques polaires et l'eau. Ils sont pratiquement insolubles dans les solvants organiques apolaires. Leur point de fusion est compris entre 200°C et 300°C [40].

2-3-4-Activité antibactérienne des saponines

Actuellement, les recherches montrent que les saponines isolées à partir des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle, possèdent des propriétés antifongique et antibactérienne [41].

3-les alcaloïdes

3-1-Définition

Les alcaloïdes sont des substances organiques hétérocycliques azotées, basiques et d'origine végétale. Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine et la codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine) [42].

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce de la plante, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, les racines, les feuilles ou les fruits [43]. En générale, les alcaloïdes sont insolubles ou très peu solubles dans l'eau, ils sont solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires [44].

3-2- Classification des alcaloïdes

Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes.

- ✚ *des phénylalanines* : capsaïcine du piment, colchicine du colchique;
- ✚ *des alcaloïdes isoquinoléiques* : morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine contenues dans l'opium du pavot.
- ✚ *des alcaloïdes indoliques*: ergométrine, ergotamine, ergotoxine de l'ergot des céréales;
- ✚ *des alcaloïdes quinoléiques* : tige feuillée de la rue commune ;
- ✚ *des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques*: ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, conine (poison violent) de la ciguë;
- ✚ *des alcaloïdes dérivés du tropane* : scopolamine et atropine de la belladone;
- ✚ *des alcaloïdes stéroïdes*: racine de véatrate, douce-amère ou aconite (aconitine) [44].

Matériel

Et

Méthodes

1- Préparation des extraits bruts

1-1 Les plantes utilisées pour l'extraction

Deux plantes sont utilisées dans cette étude : *Satureja calamintha L*, *Artemisia herba alba*, ces plantes sont choisies par rapport à leur richesse des composés phénoliques.

➤ *La plante Satureja calamintha L*

Elle représente l'une des plantes médicinales connues et utilisées par l'Homme, Le genre *Satureja* appartenant à la famille des Lamiacées [45].

Satureja calamintha L est une petite plante vivace de 40-80 cm de haut au parfum mentholé. Les tiges sont molles et velues et ils portent des feuilles opposées. Les fleurs sont visibles de juillet à octobre. (Figure14) [46].



Figure14. La plante *Satureja calamintha L* [71][72].

➤ *La plante Artemisia herba alba*

L'*Artemisia herba alba* (Nom vernaculaire : Armoise blanche en français, Chih en arabe) est une espèce steppique appartenant au genre *Artemisia* et à la famille des *Asteraceae* [47].

L'Armoise blanche est une plante vivace. Ses tiges pubescentes ont une longueur de 30 à 60 cm et sont ligneuses à la base. Ces feuilles portent de nombreuses ponctuations qui sont des glandes résineuses. La floraison s'étale généralement d'août à octobre, mais l'espèce reste visible toute l'année (Figure15) [48].



Figure 15. La plante d'*Artemisia herba alba* [48], [73]

1-2 Préparation des extraits bruts

Les extraits utilisés dans cette étude sont fournis par le laboratoire de génie microbiologique et ses applications.

L'extraction est réalisée selon le protocole d'ENNAJAR, et al [49]. La partie aérienne de plantes est séchée ensuite broyée et tamisée à travers un tamis de 1mm. 2,5 g de la poudre obtenue est mélangé avec 25 ml d'extrait (le méthanol et l'acétate d'éthyle pour la plante *Satureja calamintha* et le méthanol et le dichlorométhane pour la plante *Artemisia herba alba*). Le mélange est agité vigoureusement 30 min à température ambiante, ensuite il est conservé 24 h à 4°C. La solution est ensuite filtrée à travers un papier Wattman de 0,8 µm.

Le filtrat est évaporé dans un rotavapeur pour éliminer totalement les solvants d'extraction. Le culot séché est pesé pour calculer le rendement d'extraction et il est ensuite dilué dans le même solvant d'extraction pour réaliser les analyses ultérieures.

2- Etude phytochimique des extraits bruts

2-1 Mise en évidence de la présence des saponines

Test 1 : 5 ml de la solution à tester sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 30 min confirme la présence des saponosides [50].

Test 2 : 5 ml de l'extrait sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques [51].

2-2- Dosage des phénols totaux

Les composés phénoliques de chaque extrait sont déterminés par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu [52].

0,5 ml de la solution diluée de chaque extrait est mélangé avec 2,5 ml d'une solution de Folin-Ciocalteu (0,2 N). Le mélange est laissé à température ambiante pendant 5 min, ensuite, 2 ml d'une solution de carbonate de sodium (75 g/l dans l'eau) sont ajoutée. Après 1 h d'incubation à température ambiante, l'absorbance de la couleur bleue développée est mesurée à 765 nm.

Les concentrations sont déduites à partir d'une courbe étalon d'acide gallique (0 à 84 µg/ml) (**annexe 1**). Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec. Tous les essais sont reproduits au moins trois fois.

2-3-Dosage des phénols simples et des tanins totaux

Dans des godets de 5 ml de la centrifugeuse, 1 ml l'extrait dilué est mélangé avec 100 mg depolyvinyl polypyrrolidone (PVPP) et 1ml d'eau distillée. L'ensemble est agité puis conservé à 4°C pendant 15 min, le mélange est ensuite centrifugé à 3000 g et à 4°C pendant 10 min. Le surnageant est utilisé pour la détermination des phénols simple par le procédé de Folin Ciocalteu [52].

Les tanins totaux sont calculés selon cette formule [53]:

$$\text{Tanins (\%)} = \text{phénols totaux (\%)} - \text{phénols simples (\%)}$$

2-4-Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés sont dosés par la méthode de Butanol-HCl [55]. 0, 5 ml d'extrait est mélangé avec 3 ml de la solution de butanol-HCl (95ml de butanol+5ml d'HCl 37%) et 0,1 ml d'une solution ferrique (sulfate d'ammonium ferrique 2%, dilué dans HCl à 2N). Les échantillons sont incubés dans un bain marie bouillant pendant 60 min. Après refroidissement l'absorbance est mesurée à 550 nm contre le blanc (les réactifs chauffés sans

extrait). La concentration des tanins condensés est déterminée à partir d'une courbe étalon de quebracho tanin (**annexe 1**).

2-5- Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃). 1ml d'extrait dilué est additionné de 1ml de la solution d'AlCl₃ à 2 %. Après 15 min d'incubation à température ambiante, le développement d'une couleur jaune indique la présence de flavonoïdes, l'absorbance est lue à 415 nm.

La concentration des flavonoïdes dans chaque extrait est calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec différentes concentrations du quercetine (0 à 60 µg/ml) (**annexe 1**), les sont exprimés en équivalent de quercetine par gramme d'extrait sec [**54**].

3- Etude microbiologique

3-1 Les espèces bactériennes étudiées

L'étude de l'activité antibactérienne des extraits est portée sur des souches pathogènes isolées dans le laboratoire de microbiologie au sein de l'établissement hospitalier d'Ibn Zohr à Guelma.

➤ **L'espèce *Pseudomonas aeruginosa***

En milieu hospitalier, *Pseudomonas aeruginosa* est à l'origine de surinfections et de suppurations locales ou profondes, isolé essentiellement chez des patients présentant une immunodéficience locale ou générale (brûlés, cancéreux,...), et très fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales (infections pulmonaires, cutanées...) [**55**].

La souche testée dans cette étude est isolée à partir de crachat d'un patient atteint d'infection pulmonaire.

➤ **L'espèce *Klebsiella pneumoniae***

L'espèce *Klebsiella pneumoniae* est isolée à partir d'urine d'un patient atteint d'une infection urinaire.

En générale, ce germe est à l'origine de plusieurs infections, selon la littérature 60% des infections dues à ce germe sont des infections urinaires [**56**].

➤ *L'espèce Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qu'ils forment des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos). Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène extrêmement large dans le milieu hospitalier [55].

La souche utilisée dans cette étude est isolée des urines d'un patient atteint d'infection urinaire.

3- 2 Milieux de culture utilisés

Suivant les techniques employées et les souches étudiées, les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- Gélose nutritive (GN) : un milieu d'isolement non-sélectif. Ce milieu est utilisé pour le repiquage des souches (**annexe 2**).
- La gélose de Mueller Hinton (MH) cette gélose est reconnue comme étant le milieu de référence pour l'étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques et toutes autres substances qui possèdent une activité antimicrobienne (**annexe 2**).

3-3 Etude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques (Antibiogramme)

Le principe de la méthode utilisée consiste à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne autour d'un disque d'antibiotique déposé à la surface de la gélose.

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes de pétri sur une épaisseur de 4 mm contenant de la gélose (MH), l'ensemencement est effectué dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum. A l'aide d'une pince stérile, les disques sont placés sur les géloses. Chaque boîte contient 3 à 5 disques. Les antibiotiques utilisés sont : nitroxoline (N), rifampine (RA), tetracycline (TE), lincomycine (L), erythromycine (E), vancomycine (VA). Le choix des antibiotiques selon la disponibilité.

Cet antibiogramme est réalisé pour les 3 souches : *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

3-4 Etude de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits bruts de *Satureja calamintha* et d'*Artemisia herba-alba* sont étudiées par deux méthodes, la diffusion en puits et les micro-atmosphères.

a-Préparation des suspensions bactériennes

Les suspensions bactériennes sont préparées à partir des cultures pures et fraîches. Les souches sont d'abord cultivées sur gélose nutritive pour avoir des cultures de 18 h, les suspensions sont préparées dans une solution saline stérile à 0,9% de NaCl. A l'aide d'un spectrophotomètre, la charge bactérienne est ajustée à une concentration équivalente à 0,5 Mc Farland (annexe 2), elle est équivalente à 10^7 à 10^8 cellule par millilitre.

b- Méthode de diffusion en puits

La méthode de diffusion en puits repose sur le pouvoir migratoire des molécules volatiles d'extraits bruts à l'intérieur d'une boîte de Pétri dans un milieu nutritif solide Figure 16.

Cette méthode est réalisée sur la gélose MH, le milieu de culture stérile et fondu est versé aseptiquement dans des boîtes de Pétri avec une épaisseur de 4 mm dans chaque boîte. Après solidification et à l'aide d'un écouvillon stérile, la surface du milieu de culture estensemencée par une les suspensions de souches bactériennes.

Des puits de 10 mm sont réalisés à la surface à l'aide d'un tube stérile, après, une quantité de 100 μ l (équivalent à 100 μ g d'extrait sec) d'extrait brut est déposée aseptiquement dans ces puits. Les boîtes de Pétri sont conservés d'abord au réfrigérateur pour une durée de 2 heures, ensuite elles sont incubées dans une étuve réglé à 37°C pendant 24 heures. Deux répétitions sont réalisées pour chaque test. L'effet des extraits bruts sont comparés à un control négatif (solvant) [49].L'évaluation de l'inhibition est réalisée par mesure du diamètre d'inhibition est le calcul du pourcentage d'inhibition :

$$\% \text{ Inhibition} = (D_{\text{test}}/D_{\text{boite de pétri}}) \cdot 100$$

D_{test} : diamètre de la zone d'inhibition.

$D_{\text{boite de pétri}}$: diamètre de la boîte de pétri.

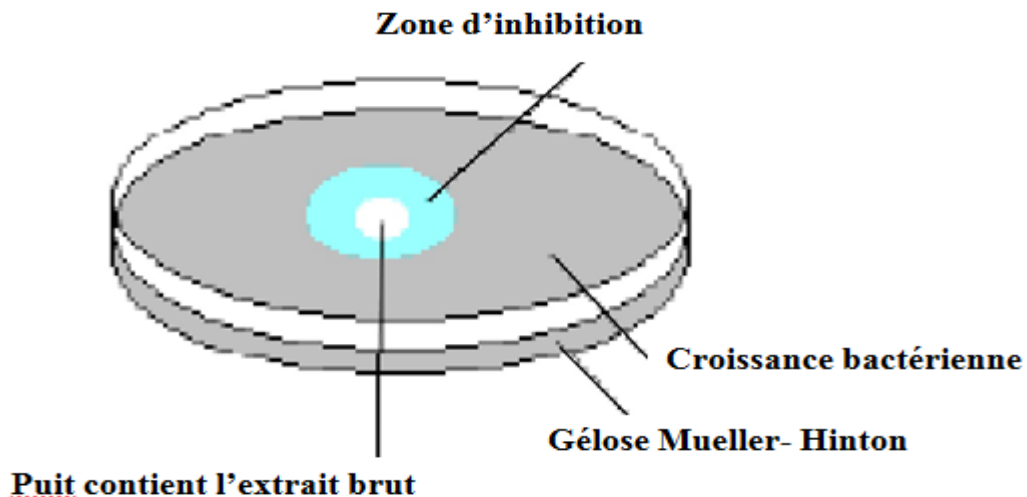


Figure 16. Schéma représentatif de la méthode des puits [57].

c-La méthode des micro-atmosphères

Le but de ce test est d'essayer d'exploiter les propriétés antibactériennes de la phase volatiles des extraits bruts (Figure 17). Cette méthode est techniquement semblable à celle de test de diffusion en puits, sauf que l'extrait brut ne sera pas en contact direct avec le milieu gélosé [58].

A l'aide d'une pince stérile, des disques stérile du papier filtre (papier Whatman N. 1) de 2,5 cm de diamètre sont déposés à la surface du couvercle des boîtes de Pétri, ensuite, les disques sont imbibés de 100 μ l d'extraits bruts.

Les boîtes ainsi sont stockées dans un réfrigérateur à 4°C pendant 2 heures, en suite elles sont incubées 24 heures à 37°C.

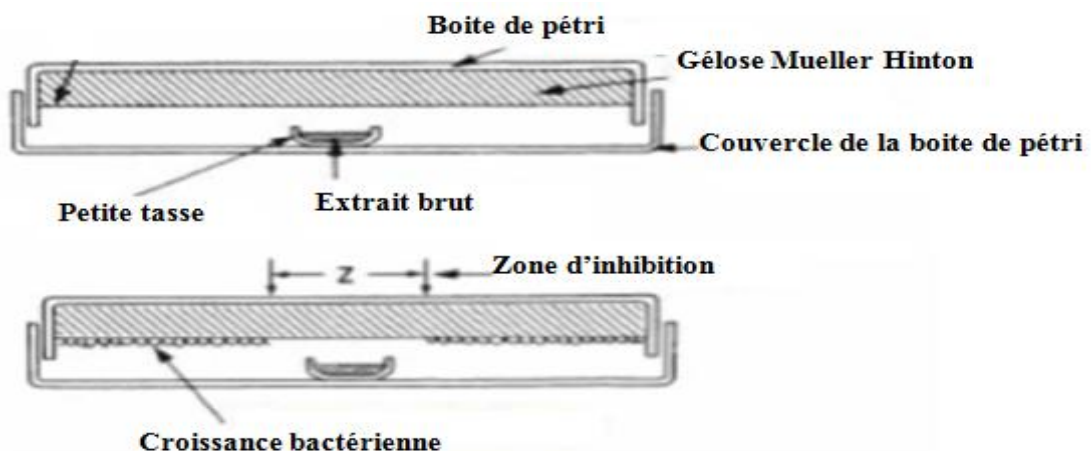


Figure17.Schéma représentatif de la méthode de micro-atmosphère [57].

4- Analyse statistique

Les données sont traitées par le logiciel statistique origine version 6. Elles sont soumises à une analyse de la variance ANOVA à un seul facteur.

Résultats et discussion

1-Etude phytochimique

Les tests phytochimiques étudiés ont permis l'évaluation quantitative de la composition des extraits bruts de plantes, principalement, la mise en évidence de la présence des saponosides, et la quantification des phénols totaux, des phénols simples, des tanins totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés.

1-1 mise en évidence de la présence des saponosides

Les résultats de test de la mise en évidence de la présence des saponosides sont résumés dans le tableau 01. Les résultats du test de formation de la mousse indiquent la présence des saponosides dans tous les extraits sauf l'extrait méthanolique de *Artemisia herba alba*, la faible teneur de cet extrait en saponosides est confirmée aussi par le deuxième test, où une couleur très claire est observée avec ce dernier comparativement aux autres extraits.

Tableau 01. Résultats des tests de détection des saponosides

<i>Extraits</i>	<i>Résultats obtenus</i>	
	<i>Test 01</i>	<i>test 02</i>
S.calamintha (M)	++++	Apparition d'une coloration rouge marron
S.calamintha (AE)	++++	Apparition d'une coloration rouge marron
A.herba alba (M)	-	Apparition d'une coloration marron verte
A.herba alba (DM)	++++	Apparition d'une coloration rouge marron

+ : Apparition d'une mousse persistante après 30 minutes.

La mousse formée est due à la nature chimique des saponines, en fait, les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon [55]. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile .

Plusieurs études ont montré la capacité de saponines à inhiber plusieurs microorganismes pathogènes, dans une étude, une souche multi-résistante de *Escherichia coli* est révélée sensible à l'action des saponines extraites de *Quillaja saponaria* [59]. Aucune étude dans la littérature n'a révélé l'activité antimicrobienne des saponines de *Satureja calamintha* et *Artemisia herba alba*.

1-2 La teneur des extraits en phénols totaux et en phénols simples

La teneur des quatre extraits bruts de plantes en phénols totaux et en phénols simples sont résumés dans le tableau 02.

Selon ces résultats, la teneur en phénols totaux et en phénols simples se diffère selon les solvants utilisés. La teneur la plus élevée en phénol totaux est enregistrée pour les deux extraits de *Satureja calamintha*, de même, d'acétate d'éthyle et le dichlorométhane sont révélés plus puissants pour l'extraction des phénols totaux comparativement au méthanol. Les mêmes comparaisons sont obtenues lors du dosage des phénols simples, où la teneur la plus faible est observée avec les extraits méthanoliques.

L'utilisation de différents solvants à polarité différente a permis de séparer les composés selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction [60]. La différence des rendements d'extraction des phénols totaux et des phénols simples peut être expliquée par la nature des solvants lui-même, le méthanol par exemple est un solvant organique oxygéné et qui contient une fonction alcool, selon sa polarité, il représente un solvant protique polaire qui possède un atome d'hydrogène susceptible de former des liaisons hydrogène. L'acétate d'éthyle est un solvant organique oxygéné qui contient une fonction ester, ce solvant est largement utilisé dans le domaine pharmaceutique pour l'extraction des antibiotiques. Le dichlorométhane est classé parmi les solvants halogénés, son caractère volatil et sa capacité à dissoudre de nombreux composés organiques font qu'il est classé comme un solvant idéal pour de nombreux procédés chimiques [61].

Selon la littérature, la teneur en phénols peut varier d'une espèce à l'autre et même entre les plantes de la même espèce selon différents facteurs. En générale, le contenu phénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à l'autre, et cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

1- Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies.... [62].

2- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante [63].

3- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux [64].

1-3 La teneur des extraits en tanins totaux et tanins condensés

Les résultats quantitatifs des tanins totaux et des tanins condensés sont résumés dans le tableau 02. Pour les deux plantes, la teneur la plus faible en tanins totaux est observée pour l'extrait méthanolique des deux plantes. De plus, la teneur la plus élevée est observée pour l'extrait d'acétate d'éthyle de *Satureja calamintha*.

Pour la teneur des extraits en tanins condensés le méthanol est révélé plus efficace pour leur extraction comparativement au dichlorométhane. Cependant, pour les extraits de *Satureja calamintha*, l'extrait de d'acétate d'éthyle est plus riche en tanins condensés comparativement à l'extrait méthanolique.

Dans cette étude, la teneur en tanins totaux est déduite à partir de la différence entre la teneur des phénols totaux avant et après traitement avec le PVPP. En réalité, es tanins sont généralement définis comme des composés polyphénoliques de haut poids moléculaire peuvent former des complexes avec les protéines. Cette méthode suppose que les composés phénoliques qui se lient à des protéines sont capables de faire des liaisons avec le PVPP, car ce composé a une grande affinité aux tanins [65].

Dans une étude, un rendement de 36 g/kg de tanins totaux est observé dans un extrait acétonique de *Artemisia herba alba*, le même extrait contient 80,6 g/kg de tanins condensés [66].

Tableau 02. Analyse phytochimique des extraits bruts de *Satureja calamintha* et *Artemisia herba alba*.

	Plante	Solvant	concentration	P
Phénols Totaux mg/g	Sat	M	30,73 ± 3,44	0,0028
		AE	50,88 ± 4,08	
	Art	M	7,02 ± 1,02	0,0107
		DM	21,23 ± 5,36	
Phénols Simples mg /g	Sat	M	16,03±1,84	0,0068
		AE	21,86 ±0 ,69	
	Art	M	2,20 ± 0,77	0,0096
		DM	4,87 ± 0,62	
Flavonoïdes mg/g	Sat	M	8,21 ± 1,21	0,0072
		AE	1,70 ± 0,77	
	Art	M	3,50 ± 1,05	0,5630
		DM	3,09 ± 0,41	
Tanins totaux mg/g	Sat	M	15,85 ± 3 ,98	0,0378
		AE	29,02 ± 4 ,08	
	Art	M	4,82 ± 1,02	0,0215
		DM	16,36 ± 5 ,36	
Tanins condensés mg/g	Sat	M	1,73 ± 0,06	0,0012
		AE	3,19 ± 0,30	
	Art	M	6,71 ± 0,44	0,0040
		DM	4,34 ± 0,53	

Sat: *Satureja calamintha*. **Art:** *Artemisia herba alba*. **M :** extrait méthanolique. **AE :** extrait d'acétate d'éthyle. **DM :** extrait de dichlorométhane. **P :** Probabilité à 5%

1-4 La teneur des extraits en flavonoïdes

Les teneurs des quatre extraits en flavonoïdes est résumé dans le tableau 02.

Selon ces résultats, le méthanol est apparu plus efficace pour l'extraction des flavonoïdes. La teneur la plus élevée est observée pour l'extrait méthanolique de *Satureja calamintha*, alors, que la teneur la plus faible est notée pour l'extrait d'acétate d'éthyle de la même plante. Pour les extraits de *Artemisia herba alba* la différence de la teneur en flavonoïdes entre les deux extraits est non significative.

Comme les autres métabolites secondaires, la teneur quantitative et même qualitative des extraits la variation selon différents facteurs, comme le climat, la région de collecte, la saison de collecte, etc. Selon la littérature, les flavonoïdes détectés dans *Artemisia herba alba* montrent une grande variation structurelle, allant de l'unité flavone et flavonol glycosides aux plus rares flavonoïdes hautement méthylés [67].

2-Etude microbiologique

2-1-Sensibilité des souches aux antibiotiques

Les souches cliniques utilisées dans cette étude sont testé vis-à-vis des antibiotiques. Les antibiotiques utilisés sont choisi d'une façon aléatoire selon leur disponibilité. Les diamètres d'inhibition provoqués par ces antibiotiques sont résumés dans le tableau 03.

Selon ces résultats la souche de *Pseudomonas aeruginosa* est plus résistante aux antibiotiques testés comparativement aux deux autres souches. En revanche, la bactérie à Gram positif, *Staphylococcus aureus* est plus sensible à l'action des antibiotiques testés.

Tableau 3 : Valeurs des diamètres d'inhibition des antibiotiques testées vis-à-vis les trois espèces bactériennes.

ATB Souches	TE D (mm)	N D (mm)	VA D (mm)	RA D (mm)	E D (mm)	L D (mm)
<i>Staphylococcus Aureus</i>	35	-	21	-	-	32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	-	0	15	-	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	17	-	12	0	0

TE :tetracycline N :nitroxoline VA :.vancomycine RA : rifampine E erythromycine. L : lincomycine .

2-2 Etude de l'activité antibactérienne des extraits bruts

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien des extraits bruts isolés de *Satureja calamintha* et de *Artemisia herba alba* par deux méthode, la diffusion en puits et les micro-atmosphères, sur un milieu gélosé solide, la gélose Mueller and Hinton (MH). L'activité antibactérienne de nos extraits est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits et des disques contenant les extraits à tester (figure 18). Les résultats des diamètres et des pourcentages d'inhibition des deux tests sont résumés dans le tableau 04.

Ces résultats révèlent que *Pseudomonas aeruginosa* est sensible vis-à-vis les quatre extraits de plantes testés. L'extrait méthanolique de *Artemisia herba alba* est l'extrait le plus actif sur cette souche, cependant les diamètres d'inhibition les plus faibles sont notés pour l'extrait méthanolique de *Satureja calamintha* et l'extrait de dichlorométhane de *Artemisia herba alba*. *Staphylococcus aureus* est aussi sensible à l'action de ces extraits, dont le pourcentage d'inhibition le plus élevé est de l'ordre de 18,05% est qui enregistré pour l'extrait d'acétate d'éthyle de *Artemisia herba alba*. La souche de *Klebsiella pneumonea* testée dans cette étude est totalement résistante à l'action des quatre extraits.

Tableau 4. Diamètres et pourcentages d'inhibition des souches tests par les extraits de *Satureja calamintha* et *Artemisia herba alba*.

Souches	Extraits	Puits		P	Micro-atmosphère	
		D (mm)	I % *		D (mm)	I % *
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Sat(M)	15,5	17,22	0,1548	Aucune zone d'inhibition	
	Sat(EA)	13	14,44			
	Art(M)	16	17,77	0,8599		
	Art(DM)	16,25	18,05			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sat(M)	13,5	15	0,0886		
	Sat(EA)	17	18,88			
	Art(M)	17,5	19,44	0,0513		
	Art(DM)	14,5	16,11			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Sat(M)	Aucune zone d'inhibition				
	Art(M)					
	Sat(EA)					
	Art(DM)					

I : pourcentage d'inhibition. **D** : diamètre d'inhibition. **P** : probabilité à 5%.

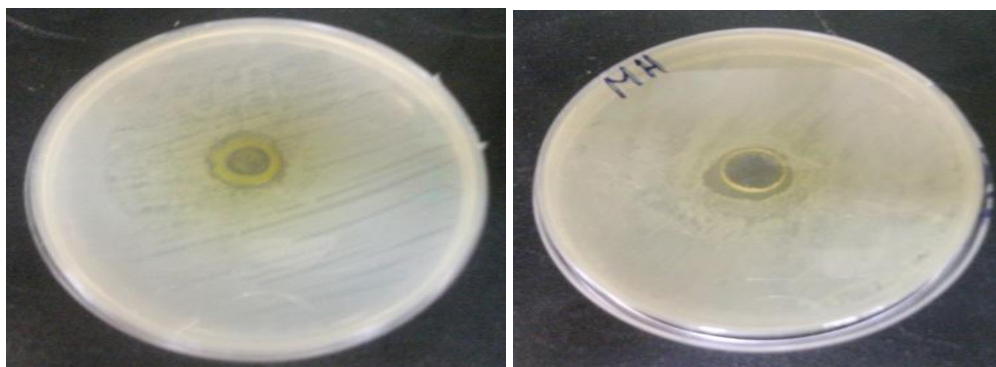


Figure18. Diamètres d'inhibition des extraits de plantes vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* respectivement.

La différence dans la sensibilité des souches peut être due à la nature des souches lui-même (présence ou absence de paroi, présence ou absence de capsule, présence ou absence de plasmides,...), selon la nature des souches, la résistance de *Klebsiella pneumoniae* est peut être attribuée à la présence de la capsule qui entoure la cellule et qui la protège contre plusieurs attaques.

De plus, la différence de sensibilités aux extraits peut être attribuée à la nature chimique des extraits testés, selon ces résultats, les diamètres d'inhibition ne sont pas en coordination avec la teneur des extraits en métabolites, ce qui suggère que l'inhibition dépend de la nature qualitative des extraits, l'exemple le plus remarquable sur ce point est l'activité antimicrobienne élevée des deux extraits méthanoliques, où les teneurs les plus faibles en phénols totaux, en phénols simple et même en tanins sont enregistrées avec ces deux extraits. En revanche, l'analyse phytochimique a révélé que les extraits méthanoliques sont plus riches en flavonoïdes, et ce qui laisse supposer que leur activité antibactérienne est due à la teneur et la nature chimique des flavonoïdes présents.

Grace à la nature chimique très hétérogène des extraits bruts, il est difficile de discuter le mécanisme par lequel ces extraits ont inhibé la croissance des deux bactéries.

Le test des micro-atmosphères a confirmé la résistance de *Klebsiella pneumoniae* vis-à-vis les quatre extraits. Pour les deux autres espèces, aucune zone d'inhibition n'a été détectée pour les quatre extraits, ce qui suggère que l'inhibition de la croissance n'est pas due à la fraction volatile des extraits.

La plupart des travaux réalisés sur ces deux plantes sont liées juste à la composition et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation [67], [68], [69].

Conclusion

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Cette étude a pour but, l'étude de propriétés phytochimiques et antimicrobiennes des extraits bruts de deux plantes, l'une appartient à la famille des *Lamiacées* (*Satureja calamintha*) et l'autre de la famille des *Asteracées* (*Artemisia herba alba*).

Le screening phytochimique a révélé la richesse de nos plantes en métabolites secondaires, où nous avons constaté la présence des phénols totaux, des phénols simples, des flavonoïdes et des tanins. La quantité des phénols totaux dans les extraits bruts des plantes utilisées dans cette étude est relativement importante, elle est plus considérable dans les extraits de *Satureja calamintha*, par rapport à celle d'*Artemisia herba alba*. Pour les deux plantes, les extraits méthanoliques sont les moins riches en phénols totaux et en tanins, alors que, ils contiennent la quantité la plus élevée en flavonoïdes. La présence des saponosides est révélée dans tous les extraits sauf l'extrait méthanolique de *Artemisia herba alba*.

Les résultats des tests biologiques effectués dans ce travail sont très promoteurs, vu que ces extraits de plantes ont révélés une activité sur deux souches pathogènes d'origine clinique: *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

En perspectives, il serait donc intéressant de mener une étude plus approfondie sur *Satureja calamintha* et *Artemisia herba alba* afin d'isoler, de purifier et d'identifier les principes actifs de ces plantes. En ce qui concerne l'activité antimicrobienne, il serait intéressant de définir le mécanisme d'action de ces substances d'origine végétale.

Sachant que l'Afrique en général et l'Algérie en particulier possédant une immense biodiversité qui ne demande qu'à être étudiée, les sujets dans ce domaine ne manquent donc pas, car chaque plante est un réservoir potentiel de métabolites avec des caractéristiques phytochimiques et pharmacologiques particulières.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- [1]-Svoboda K., Svoboda T., Secretary structures of aromatic and medicinal plants,Ed: Microscopic Publication; p: 7-12,2000.
- [2] -Bahrun T., Substances Naturelles Actives : *La Flore Mauricienne*, Une Source D'approvisionnement Potentielle .Amas .Food and Agricultural Research Council. Réduit. Mauritius. 1997.
- [3]-Bousseboua H. Eléments de microbiologie. Campus-Club2ed. Constantine. Algérie .09p, 2005
- [4]-Timbo B. Etude phytochimique et des activités biologiques de *Trichilia emetica*. Thèse Doctorat en Pharmacie, Mali : Université Bamakop: 47-53, 2003
- [5]-Catherine S. Consommation des antibiotiques dans les hôpitaux suisses : investigation d'un système de surveillance. Diplôme d'études supérieures. Lausanne (Suisse) : Faculté des Sciences de l'Université de Genève, 2007, 3.
- [6]- Nauciel C. Et Vildé JL., bactériologie médicale, masson, paris, 54,57, 59, 61,62,2005.
- [7]-Yala D., MeradA., Mohamedi D., Ouarkourich M, Résistance bactérienne aux antibiotiques, Médecine du Maghreb, 91 :13-14,2001.
- [9]-Joseph GP. Caractérisation des B- lactamases et leur inhibition par les extraits des plantes médicinales. Thèse de doctorat. Belgique : Université de liège : Centre d'ingénierie des protéines, 2007, 12.
- [10]- Hartmann T, from waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry* 68: 2831 – 2846, 2007
- [11]- Vercauteren J, Plan, Schéma, Formules du cours pharmacognosie. Université de Montpellier 1 laboratoire de pharmacognosie, 20, 87, 113, 187,2007.
- [12]- Fabrocini V, comment se soigner avec l'aromathérapie, éditions de vecchi S.A, paris, 7,1999.
- [13]- Moro Buronzo A, grand guide de l'huile essentielle, hachette pratique, France, 13, 23,2008.
- [14]-Charpentier B ., Hamon-Loreleac F., Halay A., Huard A & Ridoux L., Guide du préparateur en pharmacie, 3^{ème} édition, Elsevier Masson, 1358,2008.

Références bibliographiques

- [15]- Sell S., the Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer, 2nd edition, The Royal Society of Chemistry. Cambridge, 329,2006.
- [16]- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P., Castillejos L., Ferret A., Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation, J. Dairy. Sci. 90: 2580–2595,2007.
- [17]- Ez- Zohra N. Polyphénol de l'alimentation: Extraction, Interaction avec les ions du Fer et du Cuivre, oxydation, et pouvoir antioxydant .Thèse de doctorat .Marrakech :Université Cadi Ayyad, 2009,7.
- [18]- Carlo G., Mascolo N, Izoo A , Flavonoids old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs, Review Life Science 65: p: 337-353, 1999.
- [19]- Ritcher G., Metabolisme des végétaux physiologies et biochimie. Press Polytechnique et Universitaire Romandes ,317-339,1993.
- [20]- Adrian J., Potus J., Frangne R., La science alimentaire de A à Z, 2^{ème} Edition Lavoisier, Paris, 164,166,1995.
- [21]-Souad A.Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinu officinalis* et *Vicia faba L.* Thèse de doctorat .Algérie : Université Mentouri de Constantine, 2006, 12, 13.
- [22]-Abd elghafour M. Radiolyse gama des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges : Université de Limoges, 2003.
- [23]- Rijke E., Niessnew A., Ariesef Gooijer C., et Brinkman A., Analytical separation and detection methods for flavonoids. Review. Journal of Chromatography A, Vol. 1112: 31–63, 2006.
- [24]- Seigler SD., Plant secondary metabolism,Kluwer Academic Publishers Boston Dordrecht, London, 7,1998.
- [25]-Latifa C. Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *pseudomonas cepacia* : étude cinétique, structurale et conformationnelle. Thèse de doctorat. France : Institut National Polytechnique de Lorraine, 2006, 9.

Références bibliographiques

- [26]- Harbone JB., Nitrogen compounds in phytochemical methods, Chapman and Hall, London, 5-9, 12-13, 52-79, 1973 .
- [27]-Bruneton J., Elements de phytochimie et de pharmacognosie. Techniques et documentation Lavoisier ,156-183, 1987.
- [28]-Cowan M., Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical microbiology reviews. 124: 564-577, 1999.
- [29]-Katarzyna U., Anna M., Marta M., Joanna JB., et Grzegorz W., Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures, Biologic, 62 2 : 132-135, 2007.
- [30]-Alkurd A., Hamed T R., Al-Sayyed H., Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan, Jordan Journal of Agricultural Sciences 4: 265 – 274, 2008.
- [31]-Conrad J., Vogler B., Klaiber I., Roos G., Walter U., Kraus W., Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bar, Phytochemistry 48: 647 – 650, 1998 .
- [32]- Wollgast J., Anklam E., Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification, Food Research International 33: 423 – 447, 2000.
- [33]-Jean-Blain C., Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. Rev. Méd. Vét, 149: 911-920, 1998.
- [34]- Makkar H.P.S., Quantification of tannins in tree foliage: Working document. In: FAO/ IAEA, Vienna. 2000.
- [35]-Zimmer NC., Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants, INRA Prod. Anim. 9 3: 167-179, 1996.
- [36]-Mueller-Harvey I., Mc Allan AB., Tannins: their biochemistry and nutritional properties, Adv. Plant Cell Biochem Biotechnol 1: 151-217, 1992.

Références bibliographiques

- [37]-Sivakumaran S., Molan AL., Meagher LP. , Kolb B., Variation in antimicrobial action of pranthocyanmidine from *Dorycriu mrectum* against rumen bacteria, Phys Chem 53: 106 -111,2004.
- [38]-Kone D. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydant.Thèse de Doctorat. France: L'université Paul Verlaine de Metz –UPV-M, 2009, 22.
- [39]-Martin C. Hémisynthèse de saponosides à hédéragénine. Etude de l'influence de la chaîne osidique sur l'activité hémolytique. Thèse de doctorat. Paris(France) : L'université de Reims Champagne-Ardenne.2004, 10,11.
- [40]-Keltoum B. Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana R.Br.et Aristidapungens L*.Thèse de doctorat. Algérie : L'université Abou Bekr Belkaid.2005, 39.
- [41] - Cox SD., Mann CM., Markham JL., Gustafson JE, Warmington JR., WyllieSG., Determination the antimicrobial action of *tea tree oil*. Molecules 6: 87-91,2001.
- [42]-François NM .Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat. France : L'université Paul Verlaine de Metz –UPV- M, 2010, 49.
- [43]- Harborne JB., and Herbert B., Phytochemical Dictionary: Ahand book of bioactive compounds from plants, bristol: Tayloret Francis 1995.
- [44]- Mamadou B. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologique de *Nauclea la tifoliasmith* une plante médicinales africaine récoltée au mali .Thèse de doctorat. Mali : Université de Bamako, 2011 ,26 ,27.
- [45]- Ayla K., Fatih S. and Fatih G., Nutlet surface micro morphology of Turkish Satureja (Lamiaceae),Biologia 64 5: pp. 902-907, 2009.
- [46]-Baba Aissa F. Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident, Ed. Librairie moderne (Rouiba). 46,2000.

Références bibliographiques

- [47]-Redouane B .Etude de l'effet antidiabétique et antioxydante de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine. Thèse de magister. Algérie : L'université Mentouri Constantine, 2009,31.
- [48]-Dupont P., Atlas partiel de la Flore de France, Secrétariat de la Faune et de la Flore, Paris.1990.
- [49]-Ennajar M., Bouajila J., Lebrihi A., Mathieu F., Abderraba M., Raies A.,*et al*, Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (*Cupressaceae*). Journal of Food Science.74 7: 71–364 , 2009.
- [50]-Karumi Y., Onyeyili PA., Ogugbuaja VO., Identification of active principles of *M. balsamina*(*Balsam Apple*) leaf extract. J Med Sci, 43:179-182, 2004.
- [51]-Edeaga HO., Okwu DE., Mbaebie BO., Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants.African journal of biotechnology. 4 7:685-688 ,2005.
- [52]-Folin O., Ciocalteu V.,On tyrosine and tryptophane determination in proteins.J BiolChem 27:627–50, 1927.
- [53]-Makkar H.P.S, Recent advances in the in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. Animal Production and Health Section Joint FAO/IAEA Division International Atomic Energy Agency Vienna (Austria),2000.
- [54]-Arvouet-Grand A., Vennat B., Pourrat A., Legret P., Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants.M370 Journal. J PharmBelg 49:462–8,1994
- [55]- Leclerc H., Gaillard J-L., Simonet M Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris,1995.
- [56]-Jarlier V., Carbonne A., Astagneau P., Cas groupés d'infections à *Klebsiella pneumoniae* résistante à toutes les bêta-lactamines y compris à l'imipénème en région parisienne, 04-06-18 Raisin kpblse IR.doc, vol 2 : 1,9 ,2004 .

Références bibliographiques

- [57]-Haddadi M. Détermination de l'effet antibactérien des huiles essentielles *de lavandula Stoechas et Origanum Sp* .alger:15.
- [58]- Elena S., Şerban MI., Doina M., Codruta SI., MariusT., Screening of the antibacterial and antifungal activity of eight volatile essentialoils. *Farmacologia*,593:440-446, 2011.
- [59]- Michał A., AnetaWeG-C .,Grzegorz C., Anna L., and WiesławKaca. ,Effects of Saponins against Clinical E. coli Strains and Eukaryotic Cell Line ,Hindawi Publishing Corporation *Journal of Biomedicine and Biotechnology* ,2012: 6 ,2012.
- [60]- Soumia DZ. Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus*.Thèse Magister .Batna :Université –El Hadj Lakhder, 2009 ,60.
- [61]-Durand M., Molinier V., Kunz W., Aubry J-M. , Classification of Organic Solvents Revisited by Using the COSMO-RS Approach. *Chemistry – A European Journal*:1718:5155-64,2011.
- [62]-Ebrahimi NS., Hadian J., Mirjalili MH., Sonboli A., et Yousefzadi M., Essentialoil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages. *Food chemistry*, 110: 927-931,2008.
- [63]-Miliauskas G., Venskutonis PR., et Van BeekTA., Screening of radicalscavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*, 85: 231-237,2004.
- [64]- Lee KW., Kim YJ., Lee HJ., et Lee CY., Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*, 51: 7292-7295,2003.
- [65] –Harinder PS., Makkar P., Siddhuraju KB. ,*Plant Secondary Metabolites*, Humana Press Inc ,Totwa ,New Jersey,127,2007.
- [66]-Boufennara S. , Lopez S., Bousseboua H., BodasR., Chemical composition and digestibility of some browse plant speciescollected from Algerian arid rangelands ,*Spanish Journal of Agricultural Research* ,101:88-98,2012.

Références bibliographiques

[67]- Abou El-Hamd H., Mohamed M., El-SayedA., Mohamed E., Soleiman E., Abeer M. and Naglaa S., Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*, Rec. Nat. Prod. 2010 4: 1-25, 2009.

[68]-Badr S., Abdellah F., Mohamed F., Mohamed T., Mohamed B et Abdelaziz C.,Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* et *Satureja alpina* du Maroc, Ann. Fals. Exp. Chim, 956 - pp. 241-250,2001.

[69]-Yashphe J., Segal R., Breuer A., Erdreich-Naftali G., Antibacterial activity of *Artemisia herba-alba*. Journal of pharmaceutical sciences. 1979 Jul;687:924-5. PubMed PMID: 458619. Epub 1979/07/01.Eng.

[70]- <http://www.antibiotique.eu/le-fonctionnement-de-la-reacutesistance.html>(date de consultation (02/01/2013)).

[71]http://translate.google.com/translate?hl=fr&sl=es&u=http://es.wikipedia.org/wiki/Satureja_calamintha&ei=IQErT9jXH8_oOZaT-ZYO&sa=X&oi=translate&ct=result&resnum=2&ved=0CCwQ7gEwAQ&prev=/search%3Fq%3Dsatureja%2Bcalamintha%2Bwiki%26hl%3Dfr%26biw%3D1024%26bih%3D673%26prmd%3Dimvns (date de consultation 15/03/2013) .

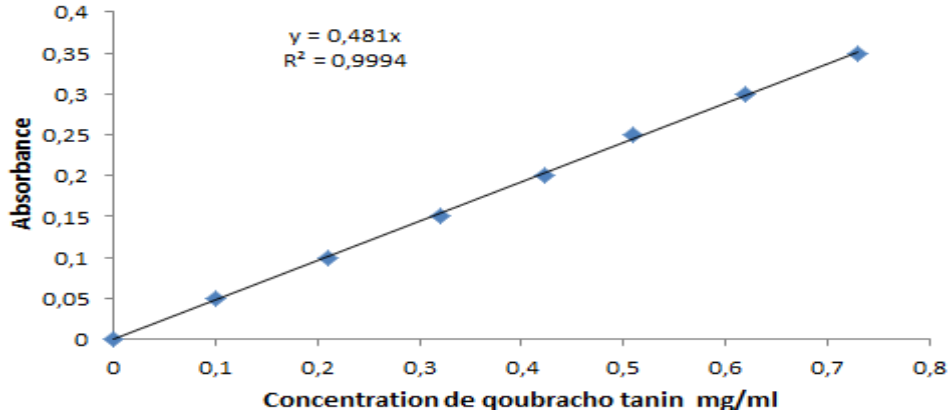
[72]- http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Satureja&lang=3(date de consultation 15/04/2013) .

[73]- http://www.senteursduquercy.com/senteursduquercy/166/boutique/34098/artemisia_herbaalba.Htm (date de consultation 15/04/2013).

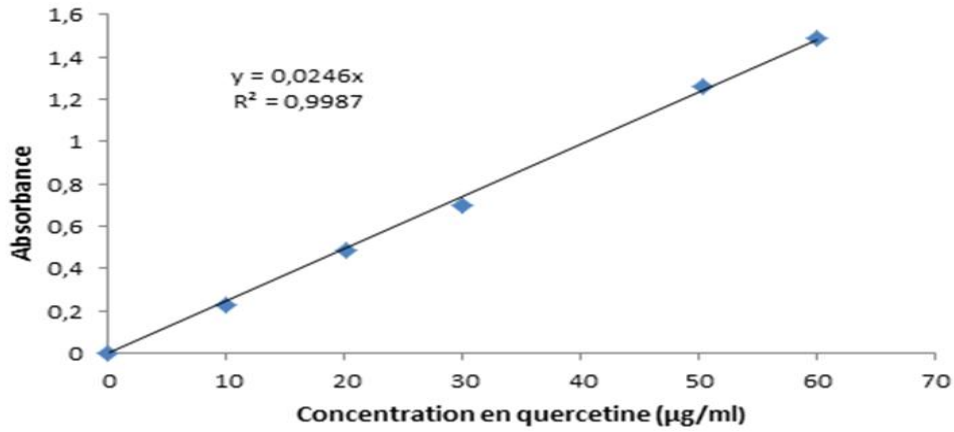
Annexes

Annexe 1

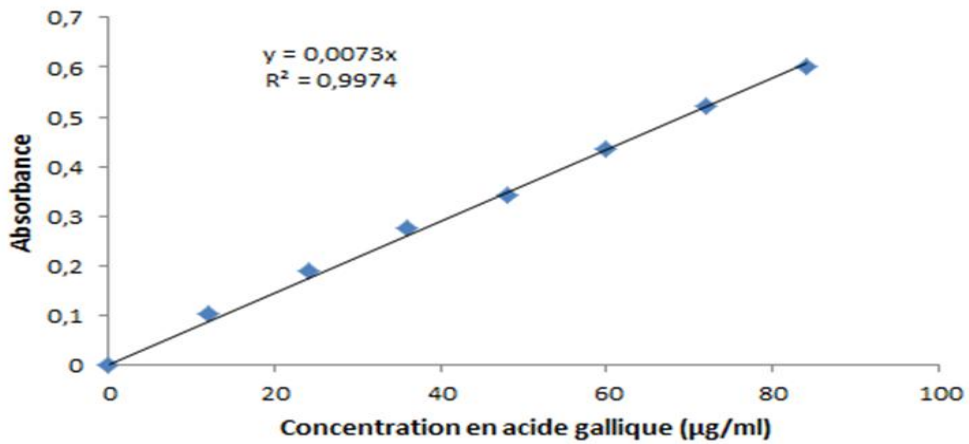
Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Courbes d'étalonnage de quebracho tanin



Courbe d'étalonnage de la quercétine



Annexe 2

Gélose Nutritive (GN)

Composition en g/l

Peptone.....	10 g.
Extrait de viande.....	03 g.
Extrait de levures.....	03 g.
Chlorure de sodium.....	05 g.
Agar.....	18g.

PH=7,3±0,2

Gélose Mueller Hinton (M.H)

Composition en g/l

Extraitde viande.....	03g.
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g.
Agar.....	18g.

pH=7,4

Préparation de la solution de 0,5 Mac Farland

L'étalon 0,5 Mc Farland est préparé, en versant 0,5 ml d'une solution de BaCl₂ dihydraté à 1% (10 g/l), dans une éprouvette de 100ml. Compléter à 100 ml avec du H₂SO₄ a 1% (10 ml/l). Ainsi préparé, il doit avoir une DO. de 0,08 à 0,11 lue à 625nm.

Résumé

L'objectif de notre travail est l'analyse phytochimique et l'étude de l'activité antibactérienne des extraits bruts de deux plantes aromatiques *Satureja calamintha* (extrait méthanolique et extrait d'acétate d'éthyle) et *Artemisia herba alba* (extrait méthanolique et extrait de dichlorométhane). L'analyse phytochimique a porté sur la mise en évidence de la présence des saponosides, ainsi que la quantification par des méthodes colorimétriques des phénols totaux, des phénols simples, des tanins totaux, des tanins condensés et des flavonoïdes. L'activité antibactérienne est testée contre trois souches pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*) isolées dans le laboratoire de microbiologie de l'hôpital de IBN Zohr de la wilaya de Guelma, cette activité est étudiée sur milieu Mueller and Hinton à travers des puits de 10 mm par 100 µl d'extraits de plantes, d'autre part, la technique des micro-atmosphères est utilisée pour révéler l'activité de la fraction volatile des extraits. Les résultats obtenus sont soumis à une analyse de la variance à un seul facteur. Les résultats obtenus révèlent la richesse des quatre extraits de plantes en métabolites secondaires. La présence de saponosides est observée dans tous les extraits sauf l'extrait méthanolique de *Artemisia herba alba*. Les deux extraits de *Satureja calamintha* sont révélés plus riches en métabolites secondaires. Pour les deux plantes, le rendement le plus faible en phénols totaux est en tanins est noté pour les extraits méthanoliques, cependant, leur teneur en flavonoïdes est la plus élevée. Les quatre extraits ont une activité antibactérienne vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, cependant, *Klebsiella pneumoniae* est résistante à leur action. Aucune activité de la fraction volatile des extraits n'est observée contre les trois souches étudiées.

Mots-clés : *Satureja calamintha*, *Artemisia herba alba*, analyse phytochimique, méthanol, acétate d'éthyle, dichlorométhane, activité antibactérienne, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*.

The objective of our work is the phytochemical analysis and the study of antibacterial activity of crud extracts of two aromatic plants, *Satureja calamintha* (methanolic and ethyl acetate extracts) and *Artemisia herba alba* (methanolic and dichloromethane extracts).

Phytochemical analysis was related to the examination of the presence of the saponosids, as well as the quantification by colorimetric methods of total phenols, simple phenols, total tannins, condensed tannins and flavonoids. The antibacterial activity was tested against three pathogenic strains (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*), which were isolated in the microbiological laboratory of the IBN Zohr hospital's in the region of Guelma, this activity was studied using Mueller and Hinton medium through two tests, diffusion on wells micro-atmospheres techniques. Results were subjected to an analysis of the variance with only one factor.

Results reveal the presence of secondary metabolites in the four extracts. The presence of the saponosids is observed in all the extracts except metanolic extract of *Artemisia herba alba*. The greatest amount of secondary metabolites is observed in *Satureja calamintha* extracts. The lowest amount of total phenol and tannins yields is noted for methanolic extracts; however, their content of flavonoids is highest. The four extracts have an antibacterial activity opposite *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, however, *Klebsiella pneumoniae* is reveled resistant to their action. No activity of the volatile fraction of the extracts is observed against the three studied strains.

Keywords: *Satureja calamintha*, *Artemisia herba alba*, phytochemicals analysis, methanol, acetate of ethyl, dichloromethane, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*

والهدف من عملنا هو التحليل الكيميائي النباتي و دراسة النشاط المضاد للبكتيريا من استخراج النفط الخام من اثنين من الأعشاب Saturejacalamintha (استخراج الميثانول و استخراج مع خلاص الأثيل) وشيح هريألبا (الميثانول استخراج و استخلاص ثنائيكلوروميثان). ركز التحليل الكيميائي النباتي على تحديد وجود الصابونين و الكمي بالطرق اللونية من إجمالي الفينول، الفينوليسبيطة، المجموع العفص، العفص مكثف و فلافونيدات. تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا ضد ثلاثة سلالات الممرضة (المكورات العنقودية الذهبية، الزائفة الزنجارية و الكلبسيلا الرئوية) معزولة في المختبر الميكروبيولوجي للمستشفى ابن زهر قالمة، يدرس هذا النشاط ومولر هينتون المتوسطة من خلال 10 مللأبار بنسبة 100

mu.l من المستخلصات النباتية، من ناحية أخرى، يتم استخدام تقنية من الأجواء الدقيقة للكشف عن نشاط جزء من مقتطفات.

تعرض النتائج التي تم الحصول عليها إلى تحليل لتباين معامل واحد. النتائج تكشف عن ثراء من النباتات بأربعة مقتطفات المركبات الثانوية.

وقد لوحظ وجود الصابونين في جميع مقتطفات باستثناء استخراج الميثانول لمنشجر هريألبا.

وكانت كميات مقتطفات من Saturejacalamintha أكثر الغنية في المركبات الثانوية.

لكمنا النباتات، وهو أدنى العائد من المشار كاتفينول، ويلاحظ العفص للمستخلصات الميثانول، ومع ذلك، مضمونها الفلافونويد هو أعلى.

أربعة مقتطفات لها نشاط مضاد للبكتيريا ضد المكورات العنقودية الذهبية والزائفة الزنجارية المسماة، ومع ذلك، الكلبسيلا الرئوية مقاومة لعملها.

لملاحظ أي نشاط للجزء من مقتطفات ضد السلالات الثلاثة التي شملتها الدراسة.

كلمات البحث: Saturejacalamintha، شيح هريألبا، و التحليل الكيميائي النباتي، و الميثانول، و خلاص الأثيل، و ثنائيكلوروميثان، النشاط المضاد للبكتيريا، المكورات العنقودية الذهبية، الزائفة الزنجارية، الكلبسيلا الرئوية خلاص.

BADAoui Fadia

DOUAOURIA Meriem

HAIACHEM Imen

Thème : Analyse phytochimique et activité antibactérienne d'extraits bruts de *Satureja calamintha L.* et *Artemisia herba alba L.*

Résumé :

L'objectif de notre travail est l'analyse phytochimique et l'étude de l'activité antibactérienne des extraits bruts de deux plantes aromatiques *Satureja calamintha* (extrait méthanolique et extrait d'acétate d'éthyle) et *Artemisia herba alba* (extrait méthanolique et extrait de dichlorométhane). L'analyse phytochimique a porté sur la mise en évidence de la présence des saponosides, ainsi que la quantification par des méthodes colorimétriques des phénols totaux, des phénols simples, des tanins totaux, des tanins condensés et des flavonoïdes. L'activité antibactérienne est testée contre trois souches pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*) isolées dans le laboratoire de microbiologie de l'hôpital de IBN Zohr de la wilaya de Guelma, cette activité est étudiée sur milieu Mueller and Hinton à travers des puits de 10 mm par 100 µl d'extraits de plantes, d'autre part, la technique des micro-atmosphères est utilisée pour révéler l'activité de la fraction volatile des extraits. Les résultats obtenus sont soumis à une analyse de la variance à un seul facteur. Les résultats obtenus révèlent la richesse des quatre extraits de plantes en métabolites secondaires. La présence des saponosides est observée dans tous les extraits sauf l'extrait méthanolique de *Artemisia herba alba*. Les deux extraits de *Satureja calamintha* sont révélés plus riches en métabolites secondaires. Pour les deux plantes, le rendement le plus faible en phénols totaux est en tanins est noté pour les extraits méthanoliques, cependant, leur teneur en flavonoïdes est la plus élevée. Les quatre extraits ont une activité antibactérienne vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, cependant, *Klebsiella pneumoniae* est résistante à leur action. Aucune activité de la fraction volatile des extraits n'est observée contre les trois souches étudiées.

Mots clés : *Satureja calamintha*, *Artemisia herba alba*, analyse phytochimique, méthanol, acétate d'éthyle, dichlorométhane, activité antibactérienne, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*.

Encadreur : Melle. *Khenaka K.*