

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 الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie appliquée

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biotechnologie
Spécialité : Biotechnologie et Biothérapie

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Appréciation du pouvoir antibactérien de l'espèce *Hypochoeris laevigaeta* var *hypponensis* de la famille des astéracées.

Présenté par : BELLOUFI Echaïma
GAMRA Houria

Le 00/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : BELLIL Inès (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 1 : KHELILI Kaoutar (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 2 : BENHAMDI Asma (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2021 - 2022

Remerciements

Nous commençons par remercier dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et l'amour du savoir pour pouvoir réaliser ce modeste travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mme « BELLIL Ines » maître de conférences (Classe A) à la faculté SNV, Université Frères Mentouri – Constantine 1, d'avoir accepté de nous encadrer, de nous avoir proposé ce travail et de n'avoir jamais lésiné à nous prodiguer conseils et assistance pour la bonne conception et l'achèvement de celui-ci. Nous vous en sommes très reconnaissantes et en espérant être à la hauteur de votre confiance.

Dédicace

♥*Grace à la volonté divine d'Allah notre dieu tout puissant et bien veillant qui a tracé le chemin de ma vie,*

J'ai pu réaliser ce modeste travail, que je dédie :

♥*À la personne la plus précieuse que j'ai, à celles qui représente les femmes du monde ensemble,*

Source d'amour et de tendresse, à celle qui n'a jamais dit non à mes exigences qui peut me supporter

Dans mes moments les plus difficiles de mes études, ma très chère mère Guerfi Ghania.

♥*À la prunelle de mes yeux, l'homme de ma vie, mon modèle, la lumière de mon chemin, le symbole du sacrifice pour notre réussite, mon très cher père Azzedine. Je souhaite que j'aie réalisé l'un de vos rêves par ce modeste travail. Puisse Dieu vous accorder longue vie pleine de santé et de bonheur.*

♥*À ma flamme d'espoire, mon amie dans les moments difficile qui m'a soutenue et m'encouragé ma sœur*

Malak.

♥*À mes meilleurs amies que j'ai toujours les trouvé derrière moi dans les moments difficiles Ferdousse, Aya,*

Zahra, Siraj, Rayan, Kamilia, Wiam, Fatima, Aridj et Samia je vous aime tellement fort.

♥*À mes chers frères et soeurs : Sami Adem, Chourouk et Mohamed.*

♥*À ma famille et à mes proches, ceux qui m'ont donné l'amour, la vivacité et tous les personnes qui ont partagé avec moi tous les moments démotion lors de la réalisation de ce travail et m'ont chaleureusement supportée et m'encouragée tout au long de mon parcours.*

♥*À mes enseignants et enseignantes depuis le primaire jusqu'à l'université, qui ont contribué pour que ce projet soit possible, je vous dis Merci beaucoup.*

Echaima

Dédicace

C'est avec un grand honneur que je dédie ce modeste travail aux deux personnes

Qui se sont sacrifiées pour que je grandisse avec un savoir-faire

Et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras....

A mes chers parents, de votre affection et de tous les efforts que vous avez déployés

Durant toute ma vie j'espère que ce travail soit l'expression de

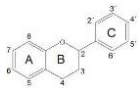
Ma pleine gratitude et de mon profond respect.

À mes frères : Ibrahim, Abdessalam, Mourad, Mohammed El Amine.

À ma sœur Khadija et tous les membres de ma famille.

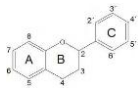
À mes amis : Mohammed, Sabrina, Aicha, Nour El Houda.

Houria



Liste des abréviations

Abréviation	Désignation
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNr	Acide désoxyribonucléique ribosomique
C°	Degré Celsius
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
DMSO	Diméthylsulfoxyde
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EAc	Extrait de l'acétate d'éthyle
EBut	Extrait de n-butanol
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
RMN	La résonance magnétique nucléaire
SM	Solution Mère
UV	Le rayonnement ultraviolet



Liste des figures

Figure 01 : Quelques espèces de plantes de la famille des Astéracées.	6
Figure 02 : <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	8
Figure 03 : Structure d'unité de base des polyphénols.....	12
Figure 04 : Hydroxylation d'acide benzoïque.	12
Figure 05 : Hydroxylation d'acide cinnamique.	13
Figure 06 : Noyau de Flavane.....	14
Figure 07 : Noyau de Flavone.....	14
Figure 08 : Structures chimiques typiques des tanins.	15
Figure 09 : Structure chimique d'anthocyane.....	16
Figure 10 : Structure d'une molécule de coumarine.	17
Figure 11 : Structure des lignanes.....	17
Figure 12 : Structure des saponosides.....	18
Figure 13 : Quelques exemples des alcaloïdes.	19
Figure 14 : Structure chimique de l'isoprène.	19
Figure 15 : Mode d'action des antibiotiques.....	26
Figure 16 : Préparation des extraits d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	30
Figure 17 : Aspect microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> après coloration de Gram (x1000).	32
Figure 18 : <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique a G X 1000.	33
Figure 19 : Genre <i>Salmonella</i> , coloration par la méthode de Gram.....	34
Figure 20 : <i>Klebsiella pneumoniae</i>	35
Figure 21 : Vue en microscope électronique d' <i>Entérocooccus faecalis</i>	36
Figure 22 : Aspect morphologique de souche de <i>Staphylococcus aureus</i> observé au microscope électronique.....	37
Figure 23 : Préparation des milieux de cultures.....	38
Figure 24 : Préparation des délutions.....	39
Figure 25 : L'ensemencement.....	40
Figure 26 : Dépôt des disques.....	41
Figure 27 : Principe de la méthode de diffusion sur disques.....	42

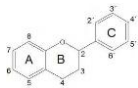
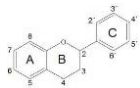


Figure 28 : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie aérienne d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	47
Figure 29 : Activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie racinaire d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	48
Figure 30 : Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane de la partie aérienne d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	49
Figure 31 : Activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie aérienne d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	50
Figure 32 : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie racinaire d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	51
Figure 33 : Diamètres d'inhibition des bactéries testées par l'extrait acétate d'éthyle, dichlorométhane, n- butanol de la partie aérienne d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i> .54	
Figure 34 : Diamètres d'inhibition des bactéries testées par l'extrait acétate d'éthyle, N-butanol de la partie racinaire d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	55
Figure 35 : L'activité antibactérienne de l'extrait N-butanol des parties racinaire et aérienne d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	56
Figure 36 : L'activité antibactérienne de l'acétate d'éthyle des parties racinaire et aérienne d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	57



Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification systématique de l'espèce <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i> .	8
Tableau 02 : Les différents extraits de la plante <i>d'Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	30
Tableau 03 : Les souches bactériennes testées.....	31
Tableau 04 : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie aérienne <i>d'Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	44
Tableau 05 : Activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie racinaire <i>d'Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	44
Tableau 06 : Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane de la partie aérienne <i>d'Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	45
Tableau 07 : Activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie aérienne <i>d'Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	45
Tableau 08 : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie racinaire <i>d'Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	46

Sommaire

Remerciement

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste de tableaux

Sommaire

Introduction..... 1

Revue bibliographique

Chapitre 01 : Généralités sur l'espèce étudiée

1. Généralités sur La famille des Astéracées	5
1.1 Position systématique des Asteraceae	5
1.2 Description botanique.....	5
1.3 Usage thérapeutique des Astéracées.....	6
2. Monographie de l'espèce <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	7
2.1 Généralités sur le genre <i>Hypochaeris</i>	7
2.2 Description botanique et systématique de l'espèce <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i>	7
2.2.1 Description botanique.....	7
2.2.2 Classification systématique.....	8
2.3 Travaux antérieurs et usage thérapeutique.....	9

Chapitre 02 : généralités sur les Métabolites Secondaires

1. Les métabolites secondaires.....	11
1.1. Définition	11
1.2 Classification des métabolites secondaires	11
2. Les composés phénoliques.....	11
2.1 Acides phénoliques.....	12
2.2 Les flavonoïdes	13
2.3 Les Tanins.....	14
2.4 Les Anthocyanes	15
2.5 Les Coumarines.....	16

2.6 Les Lignines	17
3. Les Saponosides	17
4. Les alcaloïdes	18
5. Les terpénoïdes.....	19

Chapitre 03 : l'activité antibactérienne

1. L'activité antibactérienne	22
1.1 Généralités	22
1.2 Les bactéries.....	22
2. Activités biologiques des extraits des plantes.....	23
3. Les méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	23
3.1 La méthode par diffusion.....	23
3.2 Méthodes de dilution	24
4. Détermination de l'effet bactériostatique ou bactéricide.....	24
5. Mode d'action des antibiotiques	24

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 01 : Matériel et Méthodes

1. Préparation du matériel végétal.....	29
2. Evaluation de l'activité antibactérienne	30
2.1 Test de diffusion (méthode des disques)	37
2.2 Mode opératoire	38
2.2.1 Revivification des souches.....	38
2.2.2 Stérilisation des matériels	38
2.2.3 Préparation de milieu de culture.....	38
2.2.4 Préparation des dilutions des extraits de plantes	39
2.2.5 Préparation de la suspension bactérienne.....	39
2.2.6 Ensemencement.....	40
2.2.7 Dépôt des disques	40
2.2.8 La lecture.....	41

Chapitre 02 : Résultats et Discussion

1. Evaluation de l'activité antibactérienne	44
2. Pouvoir antibactérien.....	54
Conclusion et perspectives	59
Références Bibliographiques	

Abstract

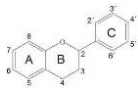
المخلص

Résumé



Introduction





Introduction

Depuis l'antiquité, l'humanité a utilisé diverses plantes rencontrées dans son environnement, pour ses besoins médicaux et alimentaires afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies (**Boumediou et Addoun, 2017**). À ce jour, les plantes jouent toujours à travers le monde un rôle capital dans l'art de soigner et de guérir. D'après **Quyoun (2003)**, il existe plus de 80 000 espèces de plantes médicinales sur notre planète. De plus en plus et avec le développement des anciennes civilisations, l'exploitation des plantes médicinales s'est développée grâce à leur savoir et à leur expérimentation effectuée dans ce domaine (**Lahsissene et al. 2009**).

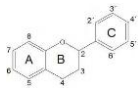
Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Ces derniers à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes (**DIBONG et al., 2011**).

Ces dernières années, de profonds changements ont marqué les connaissances en microbiologie médicale, spécialement le nombre croissant de microorganismes impliqués dans les processus pathologiques et la résistance aux traitements appliqués. Il est donc nécessaire de trouver une alternative ; de nouveaux remèdes plus efficaces ayant moins d'effets secondaires que les antibiotiques et moins onéreux, comme les plantes médicinales et aromatiques (**Eberlin, 1997**).

Les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants biochimiques naturellement présents dans une plante, ils lui confèrent son activité thérapeutique. Les principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale et ils n'ont pas les mêmes propriétés (**Sebai et Boudali, 2012**).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (**Billing et Sherman, 1998**).

La présente étude s'incère dans ce contexte et vise à évaluer et à apprécier le pouvoir antibactérien des extraits n-butanol, acétate d'éthyle et dichlorométhane d'une plante de la famille des Astéracées à savoir *Hypochaeris lavigaeta* var *hypponensis*.



Le présent document de mémoire de Master se compose de deux parties :

- **La première partie** : est une synthèse bibliographique où nous apportons des généralités sur la plante étudiée, les métabolites secondaires et l'activité antibactérienne.
- **La deuxième partie** : est expérimentale, consacrée à l'étude de l'effet antibactérien de l'extrait N-butanol, Acétate d'éthyle et dichlorométhane de la plante *Hypochaeris lavigaeta* var *hypponensis*

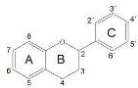
Enfin, une conclusion sera donnée qui permettra de tracer les perspectives nécessaires pour mieux approfondir ce travail.



Partie Théorique
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre 01 : Généralité sur l'espèce étudiée



1. Généralités sur la famille des Astéracées

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur (**Charles Dornietal., 2017**).

La famille des astéracées comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces. En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces et cette vaste famille est économiquement importante, vu que plusieurs de ses plantes sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, la laitue, la chicorée, la camomille, etc.) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les gaillardes, etc.).

Les membres de la famille des Asteraceae sont distribués dans le monde entier et occupent un large éventail de l'habitat. Ils sont exceptionnellement riches en métabolites secondaires. Le développement de leur complexité morphologique et chimique a contribué à la réussite de l'évolution de la famille des asteraceae et la richesse de cette famille est la base de leur utilisation très répandue comme les plantes médicinales (**Heywood et al., 1977 ; Jeffrey, 2007**).

1.1 Position systématique des Asteraceae

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta (Plantes vasculaires)

Embranchement : Phanerogamae (Phanérogames)

Sous-embranchement : Magnoliophytina (Angiospermes)

Classe : Magnoliopsida (Dicotyledones)

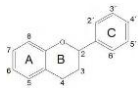
Sous-classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : *Asteraceae* (Compositae)

1.2 Description botanique

Les Asteraceae présentent des caractères morphologiques divers, ils sont principalement des herbes vivaces ou annuelles, des arbustes ou sous-arbrisseaux, rarement des plantes aquatiques ou grimpantes ou encore des épiphytes. L'aspect de l'appareil végétatif est très variable pour caractériser les Asteraceae sur un seul critère. En revanche, La famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques : le capitule.



Les feuilles sont le plus souvent alternes, opposées ou verticillées, simples, parfois profondément lobées ou découpées, à nervation généralement pennée ou palmé (Fig. 01) (Gaussen et al., 1982; Funk et al., 2009).

Les fleurs qui composent le capitule sont cyclique, hétérochlamyde, gamopétale, hermaphrodites ou unisexuées, parfois stérile, actinomorphes ou zygomorphes. (Spichiger et al., 2004; Judd et al., 1999).

Les fleurs sont agglomérées en capitules, terminaux ou axillaires. L'organisation florale des capitules est très importante à connaître en systématique. Cependant, en certains cas, le nombre de fleurs est assez restreint, on dit qu'ils sont pauciflores quand il y a 8-15 fleurs (ou moins) (genre *Achillea*). Dans le cas extrême on trouve même des capitules uniflores (*Xanthium*, *Echinops*) mais c'est l'exception (Funk et al., 2009).

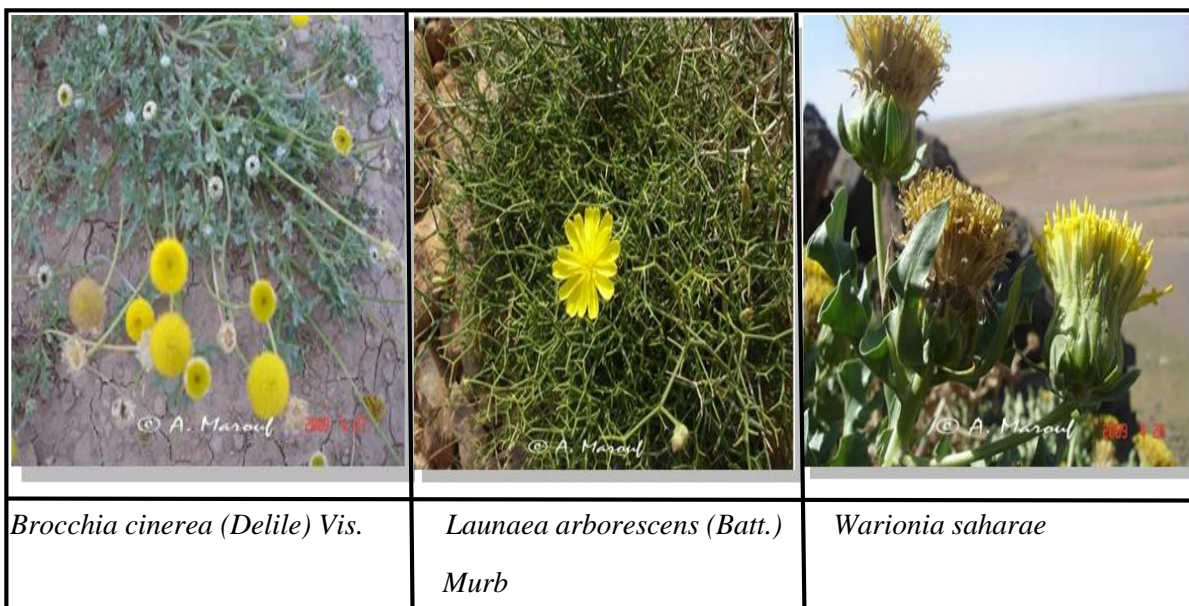


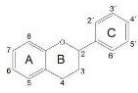
Figure 01 : Quelques espèces de plantes de la famille des Astéracées (Marouf, 2012).

1.3 Usage thérapeutique des Astéracées

La famille des Astéracées fournit des espèces très importantes d'un point de vue thérapeutique. Ceci n'est pas surprenant étant donné le nombre de genres qu'elle contient.

De nombreuses espèces sont utilisées en médecine traditionnelle et sont associées à un éventail d'activités thérapeutiques aussi larges que la diversité de cette famille.

Les propriétés biologiques attribuées aux Astéracées sont très nombreuses, notamment des propriétés antitumorale, cytotoxique, immunosuppressive, antioxydante, antiacétylcholinestérase, antimicrobienne, antivirale, antifongique, leishmanicide, trypanocide,



antipaludique, hépatoprotective, cytotoxique, larvicide, antiulcéreuse, antiinflammatoire, antinociceptive, antitussive, expectorante, antidiabétique et hémolytique. Cette liste est loin d'être exhaustive (Zheng et al., 2013 ; Wang et al., 2014 ; Hussain et al., 2013).

2. Monographie de l'espèce *Hypochaeris laevigata* var. *hipponensis*

2.1 Généralités sur le genre *Hypochaeris*

Selon Stebbins (1971), l'*Hypochaeris* est un petit genre de la famille des Asteraceae, qui contient environ 50 espèces. D'autres part, il a été rapporté dans une revue systématique de la *lactuceae*, 100 espèces pour *Hypochaeris*, dont la plus grande partie sont originaires d'Amérique du sud (Souilah et al., 2020).

Le genre *Hypochaeris* (Asteraceae) contient une espèce en Asie, environ 10 espèces en Europe et les 40 espèces restantes en Amérique du Sud. Ce genre est considéré par Stebbinset al. (1953) comme ayant la distribution géographique la plus inhabituelle de toute la tribu des Lactuceae (Cerbah et al., 1999).

2.2 Description botanique et systématique de l'espèce *Hypochaeris laevigata* var *hipponensis*

2.2.1 Description botanique

Hypochaeris laevigata var *hipponensis* est une plante vivace avec une racine amère, endémique à l'Algérie, mais très commune partout, Sur la côte, elle se développe habituellement sur les rochers humides et est utilisée comme salade par la population locale de Sérraidi à Annaba (Souilah et al., 2020).

Les feuilles glauques, radicales en rosette, pétiolées, oblongues, dentées, glabres ou hispides, parfois pinnatifides. Les tiges grêles, dressées, glabres et rameuses. L'inflorescence en capitule homogène, multiflore, cylindrique-campanulé, médiocre sur des pédoncules grêles, et non épaissies au sommet. Les fleurs hermaphrodites, ligulées, jaunes sombres, les intérieurs deux fois comme l'involucre. L'involucre à bractée soit glabre, soit hispides et parfois hérissé. Le réceptacle plan, paléacé, à écailles caduques. Le pédoncule glabre ou presque. L'akène côtelé, glabre, scabre ou plus ou moins ciliés, rétrécis au sommet, en bec plus ou moins long, les marginaux parfois tronqués. L'aigrette formée de soies plumeuses dilatées à la base, unisériées ou bisériées, parfois absentes dans les akènes externes. Comme représenté dans l'image ci-dessous (Fig.02) (Quezel et Santa, 1962).

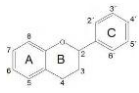


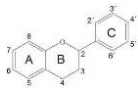
Figure 02 : *Hypochaeris laevigata* var *hipponensis* (Souilah et al. 2020).

2.2.2 Classification systématique

Selon Dupont et Guignard (2012), l'*Hypochaeris laevigata* var *hipponensis* appartient à la classification suivante :

Tableau 01: Classification systématique de l'espèce *Hypochaeris laevigata* var. *hipponensis*.

Règne	Plante
Embranchement	Embryophytes
Sous Embranchement	Trachéophytes
Super Classe	Spermatophytes
Classe	Angiospermes
Grade	Triporées
Grade	Triporées évoluées



Ordre	Astérales
Famille	Astéracées
Sous -famille	Cicoracées / Liguliflores
Tribu	Lactuceae
Sous -tribu	Leontodontinae / Hypochoerinae
Genre	<i>Hypochoeris</i>
Espèce	<i>Hypochoeris laevigata</i>
Variété	<i>Hypochoeris laevigata</i> var. <i>hipponensis</i> Maire

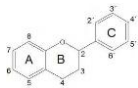
2.3 Travaux antérieurs et usage thérapeutique

Aujourd'hui, aucune étude n'a été menée sur la composition phytochimique de *Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*, à l'exception de celle de Jamuna et al. Qui ont étudié la composition de l'espèce *H. radicata* et ont signalé la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de glycosides, de glycosides cardiaques, de phénols, de résines, de saponines, de stéroïdes, de tanins, de terpénoïdes et de triterpénoïdes. *Hypochoeris radicata* est importante sur le plan médical et possède des propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuses, antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et antidiurétiques. Elle est utilisée pour le traitement de la jaunisse, des rhumatismes, de la dyspepsie, de la constipation, de l'hypoglycémie et des problèmes rénaux dans la pratique médicinale traditionnelle du Tamil Nadu, en Inde. Cependant, aucune validation scientifique n'a été faite pour cette espèce à des fins médicinales (Souilah et al., 2020).

Des études scientifiques concernant le genre *Hypochoeris* sont mentionnées beaucoup plus dans le domaine de l'origine génétique géographique, comme la phylogénie nucléaire par ADNr du genre *Hypochoeris* (Cerbah et al., 1998), le ribosome nucléaire ADN et le caryotype du genre *Hypochoeris* originaire de l'Amérique du Sud (Tremetsberger et al., 2005), la structure génétique d'*H. uniflora* (Mraz et al., 2007) et la diversité des caryotypes et l'évolution de la diploïdie et la polyploïdie du genre *Hypochoeris* dans le Sud-Américain (Weiss-Schneeweisse et al., 2008).



Chapitre 02 : Généralités sur les Métabolites Secondaires



1. Les métabolites secondaires

1.1. Définition

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. Ils accumulent des métabolites secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente, mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix et al., 2005).

Un métabolite secondaire est une substance présente chez un organisme qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante. Chez les végétaux, ces composés regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes présentes en faible concentration (à l'exception de la lignine). Ils sont classés en trois groupes principaux : les terpènes (ou les isoprénoïdes), les composés phénoliques (phénylpropanoïdes et les flavonoïdes), et les composés contenant de l'azote (alcaloïdes, glucosinolates et glycosides cyanogènes) (Fang et al., 2011).

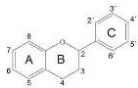
Les métabolites secondaires jouent un rôle principal chez les plantes pour les protéger dans des conditions défavorables, contre des pathogènes et les stress environnementaux. Certains terpènes tels que les gibbérellines (diterpènes), les stérols (triterpènes), les caroténoïdes (tétraterpènes), et l'acide acétique (sesquiterpènes) jouent un rôle important dans la croissance et le développement des plantes. Plus généralement les terpènes jouent un rôle essentiel dans la défense des plantes, car ils présentent une toxicité pour les insectes et les mammifères. Les pyrétroïdes du chrysanthème qui agissent comme des insecticides en sont un bon exemple (Lincoln et Zeiger, 2006).

1.2 Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine.

2. Les composés phénoliques

Dans la littérature il existe deux propositions pour définir les polyphénols. La première les définit comme étant une structure moléculaire qui porte plusieurs groupements phénoliques tandis que la deuxième indique la présence d'un groupement phénol polyhydroxylé (Fig. 03).



Ces polyphénols sont des métabolites secondaires synthétiser par les végétaux pour se défendre contre les agressions environnementales (**Buchanan et al., 2000**). Il s'agit des dérivés non azotés connus par une grande variété structurale dont environ 8000 composés ont été identifiés (**Lobstein, 2010**).

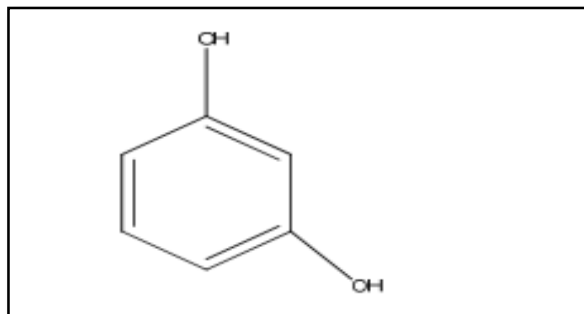


Figure 03 : Structure d'unité de base des polyphénols.

2.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont rares dans la nature. Ces composés sont formés de deux catégories: la première catégorie contient les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque qui par monohydroxylation et/ou polyhydroxylation forme des acides phénoliques et des acides polyphénoliques respectivement l'acide gallique et l'acide protocatéchine (Fig. 04). La deuxième catégorie regroupe les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique. De même avec l'acide cinnamique, l'hydroxylation conduit à l'acide p-coumarique et à l'acide caféique (Fig. 05) (**Haslam, 1994**).

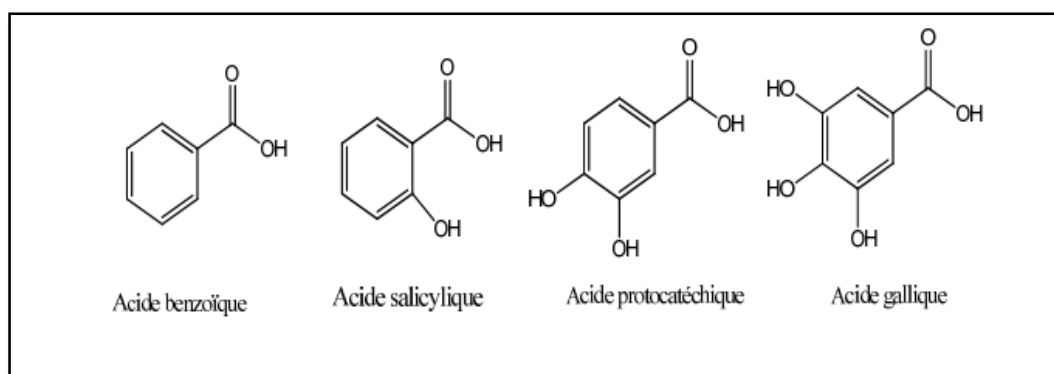


Figure 04: Hydroxylation d'acide benzoïque.

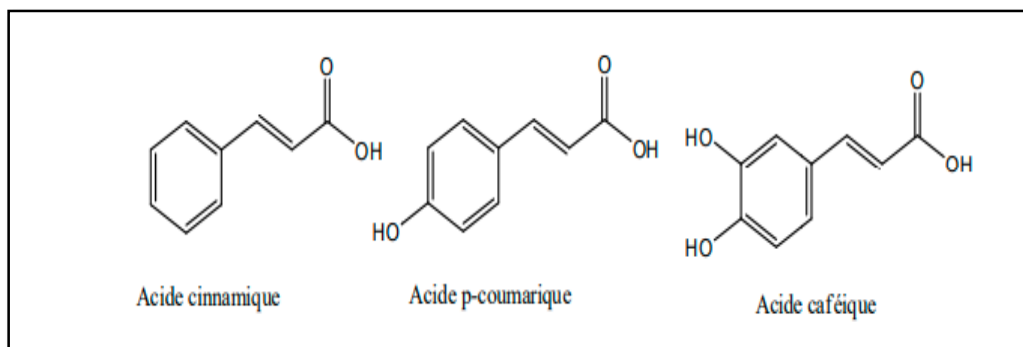
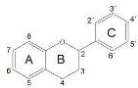


Figure 05 : Hydroxylation d'acide cinnamique.

2.2 Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde provient du latin flavus signifiant jaune, La présence de flavonoïdes a été révélée dans le zeste du citron par les travaux du Hongrois **Szent –Gyogyi** en (1936 ; 1937) sur le scorbut. Avant lui, la première substance flavonoïde obtenue à l'état pur, le morin a été isolée par **Chevreur** en (1814).

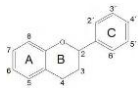
Le terme "flavonoïde" provient du nom flavedo correspondant à la couche externe des écorces d'orange, Ce terme désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Kenza et Merbouha 2019**).

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires correspondant aux polyphénols (**Queiroz Ferreira et al. 2015; Li et al. 2017; Shoaib et al. 2017**), présents en abondance dans les plantes (**Grace et Logan 2000; Tounekti, Hernández, et Munné-Bosch 2013; Afzal et Alvina 2014**)

➤ Structure chimique et classification

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone (Fig. 06) ou 2-phenyl chromons portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides et/ou le noyau FLAVONE est lui-même un dérivé du noyau FLAVANE de base (Fig. 07).

Les flavonoïdes sont donc des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques « noyaux A et B » et d'un hétérocycle oxygéné.



Ils sont divisés en six sous-classes : flavones, flavonols, flavanones, catéchines ou flavanols, anthocyanidines et isoflavones (Weng et Yen 2012).

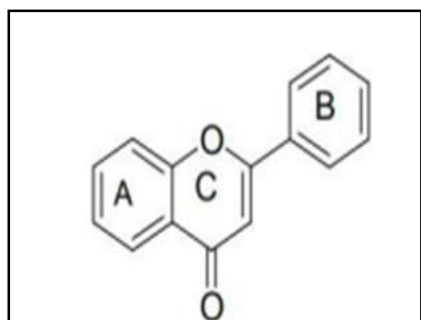


Figure 06: Noyau de Flavane

(K. Ghedira 2005).

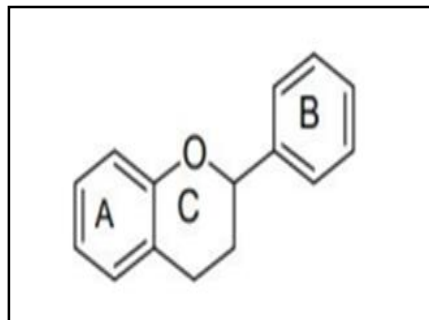


Figure 07: Noyau de Flavone

K. Ghedira 2005).

2.3 Les Tanins

Les tanins constituent un groupe avec une diversité large en structure, qui partage leur capacité de lier et précipiter les protéines. Selon la structure on a deux types de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés, dits aussi proanthocyanidines (Han et al., 2007).

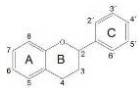
- **Tanins hydrolysables**

Ce sont des oligo ou des polyesters de glucides et d'un nombre variable d'acides phénols. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins, soit l'acide ellagique dans le cas des tanins classiquement dénommés ellagitanins (Fig. 09) (Bruneton, 1999 ; Cowan, 1999).

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 (Vermerris et Nicholson, 2006).

- **Tanins condensés**

Les proanthocyanidines, également connues sous le nom de tanins condensés, sont des dimères, des oligomères et des polymères de catéchine qui sont liés entre eux par des liaisons entre C4 et C8 (ou C6). Grâce à la formation de complexes avec les protéines salivaires, les tanins condensés sont responsables du caractère astringent des fruits et des boissons. Ils diffèrent fondamentalement des tanins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucres dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes (Fig. 08) (Manach et al., 2004).



Les polymères de ces tanins se forment sous l'action d'acides ou d'enzymes, ils sont constitués généralement de 2 à 50 unités monomériques (**Vermeris & Nicholson, 2006**).

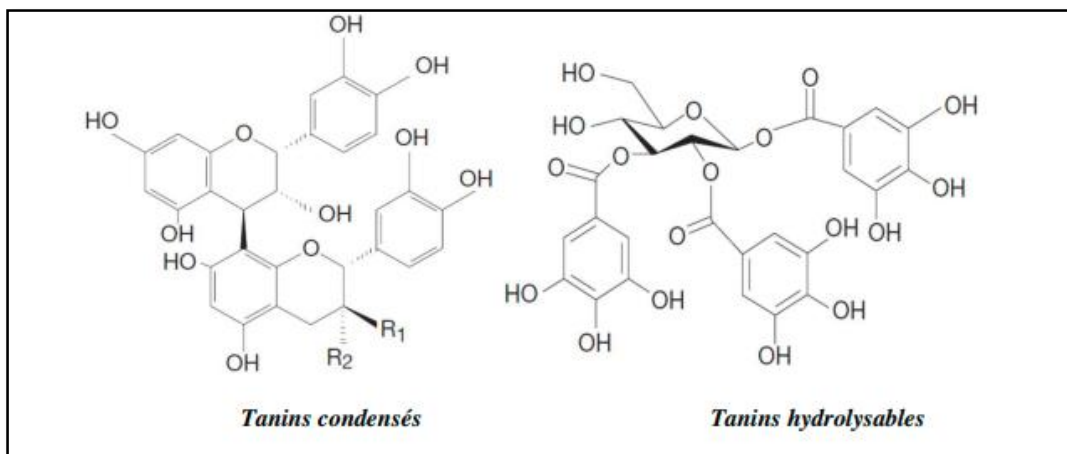


Figure 08 : Structures chimiques typiques des tanins (**Achat, 2013**).

2.4 Les Anthocyanes

Les anthocyanines sont des composés phénoliques responsables de la couleur des fleurs, fruits et baies. Ils peuvent être glycosylés ou polyhydroxylés. Ils sont hydrosolubles et possèdent une propriété anti-inflammatoire (**Longo et al., 2005**), et antioxydantes (**Ghosh et Konishi, 2005**). Sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle central C. Ce sont des composés responsables de la plus grande partie des couleurs rouge, violette et bleue observées dans la nature. Les anthocyanes interviennent directement dans les interactions plantes-animaux et surtout dans l'attraction des pollinisateurs par la couleur des fleurs (**Buchanan et al., 2000**). Plus de 500 composés anthocyanidines sont connus selon le degré d'hydroxylation et de méthylation du cycle B. Les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine (Fig. 09) (**Tsao, 2010**).

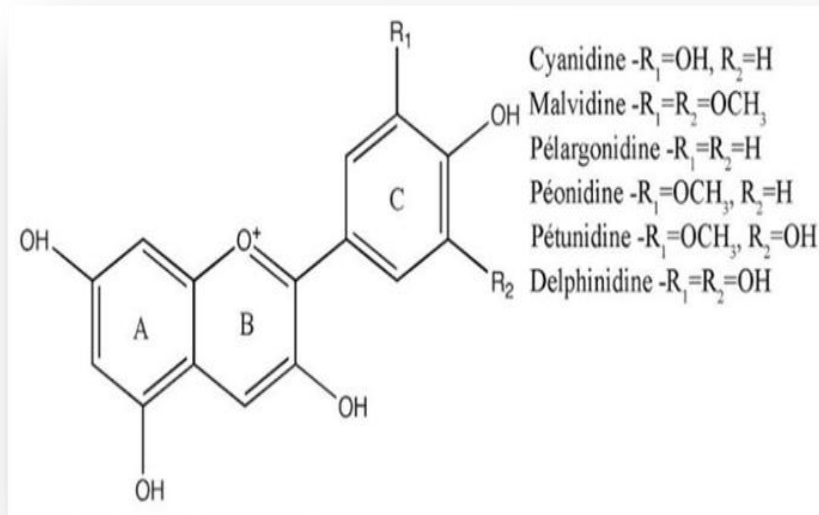
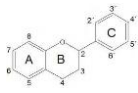


Figure 09 : Structure chimique d'anthocyane (Jackmanet Smith, 1996).

2.5 Les Coumarines

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuse, Rutacées, Apiécées et Thymeleacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Deina et al., 2003 et Booth et al., 2004). Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée (Hofmann, 2003), Cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. Les coumarines peuvent également se trouver dans le règne animal (les glandes à sécrétion odoriférante du castor) et chez certains microorganismes (Fig. 10) (Hofmann, 2003).

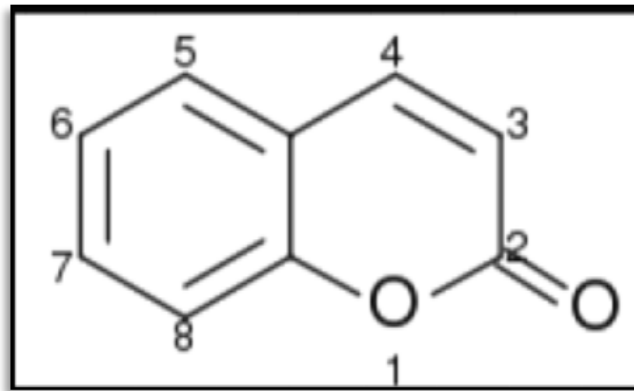
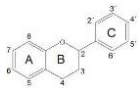


Figure 10 : Structure d'une molécule de coumarine (Cowan, 1999).

2.6 Les Lignines

Les lignines constituent une classe importante de métabolites secondaire dans le règne végétal. La distribution botanique des lignines est large : plusieurs centaines des composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles. Chez les gymnospermes, ils sont surtout rencontrés dans les bois alors que chez les Angiospermes, ils ont été identifiés dans tous les tissus, il a été découvert dans toutes les parties des plantes : les racines, les feuilles, les fruites est les graines (Fig. 11) (Midoun, 2011).

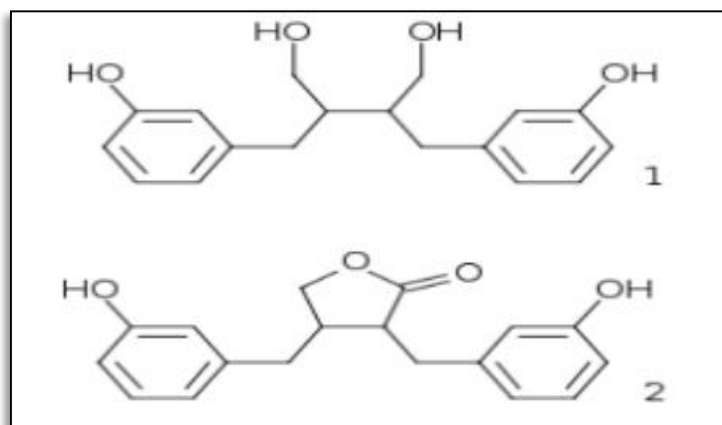
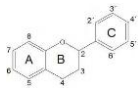


Figure 11 : Structure des lignanes (Midoun, 2011).

3. Les Saponosides

Le saponoside (ou saponine) est un hétéroside généralement d'origine végétale formé d'une génine de type triterpène ou stéroïde appelée sapogénine, possédant un ou des groupements osidiques. Les saponosides sont un vaste groupe de glycosides, largement distribués chez les



plantes supérieures, leurs propriétés tensio-actives les distinguent des autres glycosides. Ils se dissolvent dans l'eau pour former des solutions moussantes colloïdales par agitation (Tyler et al., 1981).

Ils sont capables d'agir par la perméabilité des membranes cellulaires. Les saponosides sont généralement connues en tant que composés non-volatils, tensioactifs, elles sont largement distribués dans la nature, survenant principalement dans le règne végétal (Lasztity et al., 1998; Oleszek, 2002; Hostettmann et Marston, 2005). Le nom « saponine » est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie « savon », parce que les molécules de saponoside forment des solutions moussantes quand on les mélange avec de l'eau. Structurellement et chimiquement, ce sont des molécules glycosidiques triterpéniques et stéroïdiques. Cette combinaison structurelle d'éléments polaires et non polaires (caractère amphiphile), explique leur comportement de savon dans les solutions aqueuses (Oleszek, 2002). Ils existent sous deux formes, les stéroïdes et les terpénoïdes (Fig. 12) (Iserin et al., 2001).

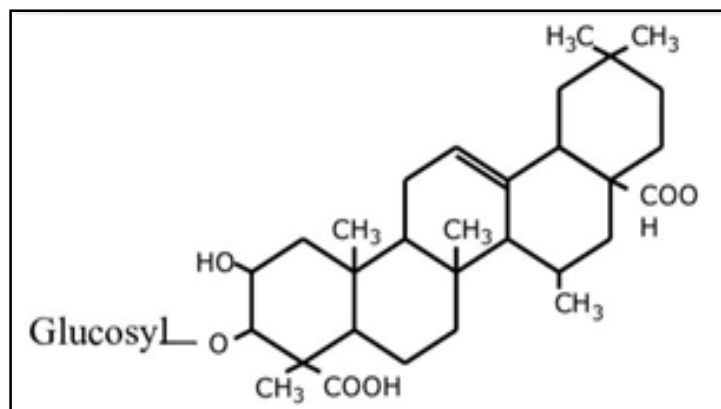
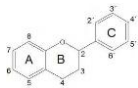


Figure 12 : Structure des saponosides.

4. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes est une substance azotée, basique, leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique (Bruneton, 1999). Cet atome d'azote provient, en général, d'un acide aminé dont la structure carbonée reste souvent intacte dans la structure finale de l'alcaloïde. On distingue généralement :

- **Les alcaloïdes vrais**, qui sont d'un point de vue de la biosynthèse dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle : exemple la strychnine dérivée du tryptophane.
- **Les proto-alcaloïdes**, qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels l'azote est en



dehors des structures cycliques (exemple : la colchicine).

- **Les pseudo-alcaloïdes**, qui ne dérivent pas d'acides aminés (exemple : la caféine) (Fig. 13).

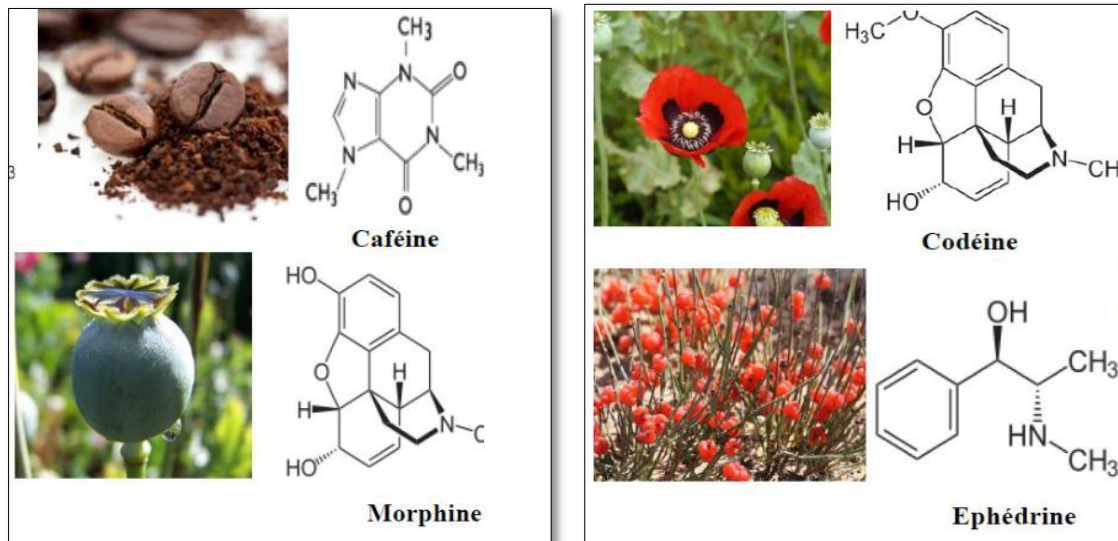


Figure 13: Quelques exemples des alcaloïdes (Badiaga, 2011).

5. Les terpénoïdes

Le terme terpène inventé par Kekulé, vient de leur origine historique de l'arbre de térébinthe : « PistaciaTerebinthus » (Ayad, 2008). Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (Benaissa, 2011). L'exploitation de ces composés s'effectuait sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) par le moyen de la distillation (Fig.14) (Malecky, 2005).

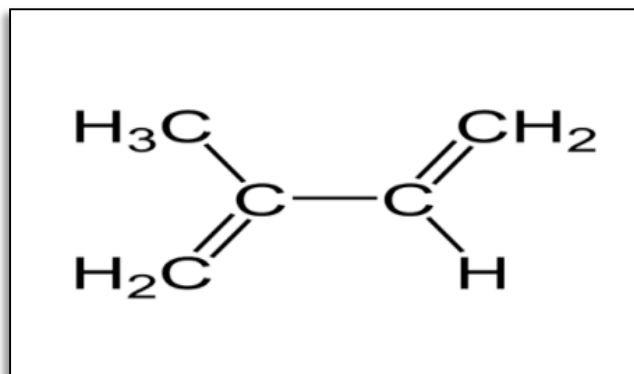
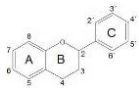
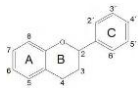


Figure 14 : Structure chimique de l'isoprène (Bakkali et al, 2008).

La classification des terpenoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (Fig.15) en donnant des hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes (Mebarki, 2010).



Chapitre 03 : l'activité antibactérienne



1. L'activité antibactérienne

1.1 Généralités

Les infections microbiennes occupent actuellement la première place dans les pathologies médicales. Malgré les efforts déployés pour endiguer ce fléau, les maladies infectieuses continuent de poser d'énormes problèmes de santé publique. (CISSE H.,2006)

Les qualités antimicrobiennes des plantes médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser.(Haddouche; 2008)

Ces dernières années, il y a eu un grand intérêt pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens, due à une augmentation alarmante du taux des infections avec les microorganismes résistant aux antibiotiques.

Les antibiotiques figurent parmi les médicaments les plus prescrits et constituent une des sources majeures de dépenses de santé liée aux médicaments. Leur utilisation a donc des incidences économiques qui dépassent largement la médecine humaine. (Carbon 2000).

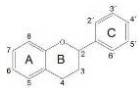
A cause de leurs fréquences et de leur gravité dans les pays en cours de développement, les maladies infectieuses présentent une grande importance dans le domaine de la santé publique, plusieurs bactéries étant impliquées dans ces infections. Pour cette raison, les recherches scientifiques se sont focalisées, dans ces dernières années, sur l'identification de certaines molécules ayant une activité antibactérienne extraite essentiellement des plantes

médicinales (Traoré et al., 2012).

1.2 Les bactéries

Une bactérie est un microbe formé d'une seule cellule, visible au microscope, appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal. Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, une paroi parfois d'une capsule. Certaines bactéries sont mobiles grâce à des cils vibratiles. Selon leur mode de nutrition et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont classées en aérobies et en anaérobies.

Pour croître, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physicochimiques favorables qui leurs sont nécessaires et les aliments couvrant leurs besoins énergétiques élémentaires et spécifiques. Sur le plan pratique, ces besoins sont satisfaits dans



des milieux élaborés par l'homme en vue d'étudier les bactéries et sont appelés de ce fait, milieux de culture. (Leclerc et al. 1995 ; Madigan et al. 1997 ; Marc et al. 2001).

On peut classer les bactéries grâce à la coloration de gram, qui distingue deux types de bactéries :

a) **Les bactéries à gram positif** : Sont mises en évidence par une technique de coloration appelée coloration de gram. Les bactéries à gram positif apparaissent alors mauves au microscope.

b) **Les bactéries à gram négatif** : Sont mises en évidence par une technique de coloration appelée coloration de gram. Les bactéries à gram négatif apparaissent alors roses au microscope.

2. Activités biologiques des extraits de plantes

Les extraits de plantes sont largement utilisés pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, et activités insecticides (Silva et al. 2003). Des études sur les différents composants des extraits ont montré d'importants modes d'action biologique pour éventuelle application en santé. Certains d'entre eux constituent des alternatives efficaces à des composés synthétiques de l'industrie chimique, sans qu'il y ait apparition d'effets secondaires (Bakkalia et al. 2007).

L'activité biologique d'un extrait végétal est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (Dorman, 2000).

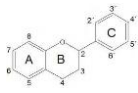
3. Les méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

3.1 La méthode par diffusion

Plusieurs méthodes sont utilisées pour l'évaluation du pouvoir antibactérien des extraits de plantes, d'huiles essentielles ou de produits purs, parmi elles :

A. La méthode de diffusion à partir de disques imprégnés (Méthode de Kirby –Bauer)

Il s'agit de la méthode de diffusion sur disque la mieux décrite pour laquelle des normes d'interprétation ont été élaborées et qui s'appuie sur des données cliniques et de laboratoire. Elle peut comporter des modifications mineures donnant lieu à plusieurs variantes, mais la plus utilisée en routine reste la méthode de Kirby-Bauer modifiée. Cette méthode consiste à imprégner des disques de papier en une quantité définie d'agent antimicrobien, puis à les placer



sur un milieu de gélose uniformément ensemencé avec l'organisme d'essai. Un gradient de concentration des antibiotiques se forme par diffusion à partir du disque et la croissance de l'organisme d'essai est inhibée à une distance du disque qui est liée entre autres facteurs à la sensibilité de l'organisme.

B. La méthode de diffusion à partir des puits

Le principe de cette méthode est similaire à celui de la méthode des disques ; il consiste à réaliser des puits dans la gélose de 2.5mm de profondeur, qui sont par la suite remplis d'extraits ou d'antibiotique à tester (**Carbonnelle, 1988 ; Colins et Lync, 1976 ; Vandepitte et al., 1994**). La lecture des zones d'inhibition se fait de la même manière que dans la méthode des disques.

3.2 Méthodes de dilution

Les techniques de dilution sont utilisées en milieu solide ou liquide. Le principe de ces méthodes consiste à mettre en contact un inoculum bactérien standardisé avec des concentrations croissantes de la substance antimicrobienne testée selon une progression bien définie afin de déterminer la CMI de cette dernière (**Burnichon et Texier, 2003**).

4. Détermination de l'effet bactériostatique ou bactéricide

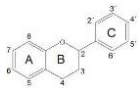
La détermination de l'effet bactéricide ou bactériostatique de l'extrait est réalisée en procédant à un repiquage des zones d'inhibition formées et ne présentant aucune croissance bactérienne visible à l'œil nu sur milieu de culture.

- S'il y a croissance bactérienne, l'extrait a un effet bactériostatique sur la souche testée.
- S'il y a une absence de la croissance bactérienne, l'extrait présente un effet bactéricide vis-à-vis cette souche.

5. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne, cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés. Comme représenté dans la figure ci-dessous (Fig. 15) (**Mevius et al., 1999 ; Oxoby, 2002**). Les antibiotiques peuvent agir sur :

- **La paroi bactérienne** : Bacitracine, Pénicilline et Céphalosporines agissent sur les germes en croissance et inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane



(muréine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité, ce qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intracytoplasmique) au cours de la multiplication cellulaire. La nouvelle bactérie n'est plus protégée entraînant ainsi une lyse bactérienne (Zeba, 2005).

- **La membrane cellulaire** : en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur.
- **L'ADN** : Certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase. L'actinomycine bloque la progression de l'ARN polymérase. Les sulfamides provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases nucléiques (Flandrois et al., 1997), les quinolones et fluoroquinolones inhibent l'ADN gyrase (Chopra, 1998).
- **Le ribosome bactérien** : sur les ribosomes, l'antibiotique entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales. Les aminoglycosides ou aminosides (streptomycine, gentamycine, amikacine), empêchent la traduction de l'ARNm en se fixant sur la petite sous-unité des ribosomes (Hermann, 2005). Les phénicol (chloramphénicol, thiamphénicol) bloquent la formation de la liaison peptidique sur la grosse sous-unité du ribosome bactérien. Les cyclines (tétracycline, doxycycline) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique en se fixant sur la petite sous-unité (Flandrois et al., 1997). Les macrolides et les kétolides (érythromycine, azithromycine) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique (Nilius et Ma, 2002). La puromycine copie l'extrémité d'un ARNt, prend sa place dans le ribosome et bloque l'élongation de la chaîne peptidique.
- **Autres** : en agissant en tant qu'antimétabolites bactériens (c'est à dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries).

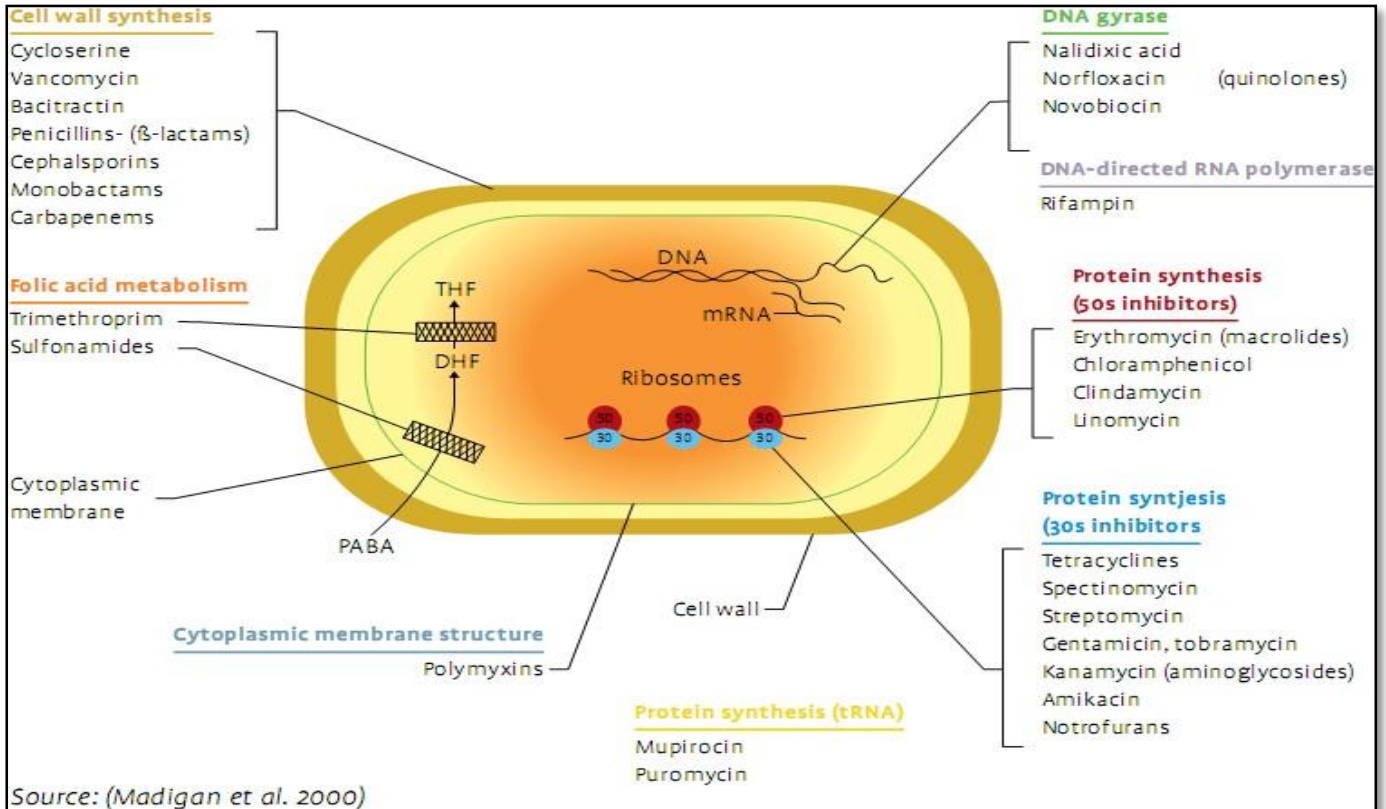
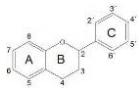


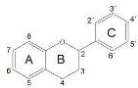
Figure 15 : Mode d'action des antibiotiques.



Partie
EXPERIMENTALE



Chapitre 01 : *Matériel et* *Méthodes*



Notre étude s'est déroulée au laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétales, Université Frères Mentouri Constantine 1.

Les travaux actuels ont consisté à étudier l'activité antibactérienne des extraits d'*Hypochaeris laevigata* var *hipponensis*. Le but est de développer de nouveaux antibiotiques naturels qui n'ont pas d'effets nocifs sur l'homme par rapport à leurs homologues synthétiques.

Cette plante médicinale a été sélectionnée pour ses propriétés médicinales, sa grande utilisation dans la population et sa valeur médicinale intéressante.

1. Préparation du matériel végétal

- **Séchage et broyage**

Une fois la plante (*Hypochaeris laevigata* var *hipponensis*) récoltée, leurs parties aériennes et racinaires ont été séchées dans un endroit sec et bien ventilé, à l'abri de la lumière du soleil et de l'humidité pendant 15 jours. Le matériel végétal a été ensuite broyé à l'aide d'un broyeur mécanique. Après broyage la poudre obtenue a été soumise à une extraction afin de récupérer les différentes classes de composés chimiques.

- **Extraction et fractionnement des métabolites secondaires**

Des extraits d'*Hypochaeris laevigata* var *hipponensis* à savoir Dichlorométhane, N-butanol, Acétate d'éthyle ont été obtenus suite à une première étape de macération de la poudre obtenue dans du méthanol à 80%, l'extrait brut est ensuite fractionné en utilisant les solvants organiques de polarité croissante qui ont donné les extraits cités dans le tableau ci-dessous.

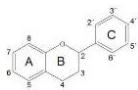


Tableau 02 : Les différents extraits de la plante *Hypochaeris laevigata* var. *hipponensis*.

Les extraits	La composition
1	La partie aérienne d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i> + N-butanol
2	La partie racinaire d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i> + Acétate d'éthyle
3	La partie racinaire d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i> + N-butanol
4	La partie aérienne d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i> + Dichlorométhane
5	La partie aérienne d' <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i> + Acétate d'éthyle

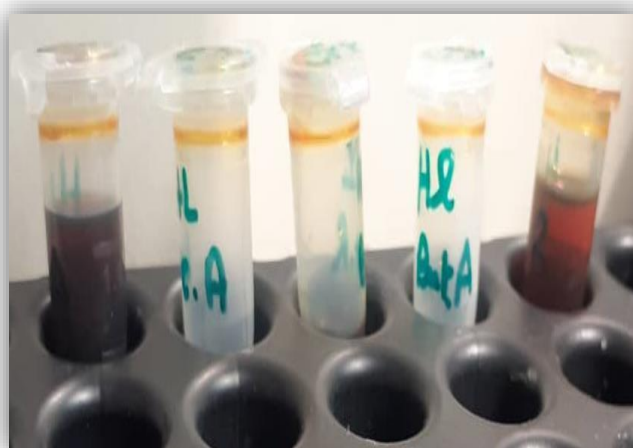


Figure 16 : Préparation des extraits d'*Hypochaeris laevigata* var *hipponensis*.

2. Evaluation de l'activité antibactérienne

- **Les souches bactériennes testées**

Le choix des souches a été basé sur six souches fréquentes en pathologie humaine, nous avons sélectionné deux groupes de bactéries : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. Ce sont des souches prélevées de différents produits pathologiques (Selles, urines, pus, sang, prélèvement vaginal ... etc.) comme indiqué dans le tableau suivant :

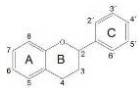


Tableau 02 : Les souches bactériennes testées.

les bactéries à Gram positif	les bactéries à Gram négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Entérocooccus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Salmonella</i>

❖ **Les bactéries à Gram négatif**

A. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa c'est un bacille à Gram négatif non fermentant, aérobic strict, non sporulé, mobile grâce à un flagelle monotriche polaire. Il mesure entre 1 à 5µm de long sur 0,5 à 1µm de large. Parfois entouré d'une pseudocapsule appelée slim qui peut jouer un rôle important dans la pathogénicité de cette bactérie. Sa membrane externe contient des porines dont le nombre et la taille, susceptibles de varier, conditionnent la perméabilité aux antibiotiques (Eyquem, et al., 2000).

P. aeruginosa est une espèce bactérienne ubiquitaire comme toutes les espèces du genre *Pseudomonas* ou apparentées. Il survit particulièrement dans un milieu humide. En milieu hospitalier *P. aeruginosa* peut être rencontré dans l'environnement proche du patient. Les points d'eau, ainsi que le matériel hospitalier peuvent être contaminés par ce micro-organisme. Cette bactérie peut faire partie de la flore transitoire de l'homme : flore digestive, cutanée, pharyngée. Il a été démontré que les patients et le personnel médical peuvent être des réservoirs et vecteurs potentiels de *P. aeruginosa*, notamment lorsque les mesures générales d'hygiène ont été mal ou non appliquées. Concernant la transmission, elle peut être exogène à partir de réservoirs environnementaux, du matériel contaminé et par le personnel soignant (mains) ; ou endogène à partir d'un site colonisé (tube digestif, urine, peau) (fig. 17) (Cabrolier et al, 2014 ; Danielle CLAVE 2011).

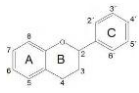


Figure 17 : Aspect microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* après coloration de Gram (x1000) (Khalilzadeh, 2009).

B. Escherichia coli

Escherichia coli (appelée également *E. coli*) est une bactérie Gram négatif (**Ophélie, 2008**), d'une durée d'incubation de 3 à 4 jours.

Naturellement retrouvés dans le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux mais peut provoquer cependant une TIA qui se manifeste par : diarrhée banale ou, colite hémorragique, crampes abdominales et diarrhée initialement aqueuse puis sanglante chez un patient généralement apyrétique ou subfébrile, lors de l'ingestion d'une grande variété de nourriture (spécialement : la viande hachée de bœuf insuffisamment cuite, les produits laitiers non pasteurisés, les végétaux crus et l'eau de boisson) (fig. 18) (**Ramanathan, 2010; Birembaux, 2017**).

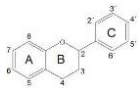


Figure 18 : *Escherichia coli* sous microscope électronique a G X 1000 (Avril et al., 2000).

C. *Salmonella*

Les *salmonella* sont des bactéries mésophiles, ayant une température optimale de croissance de 35/37°C, cependant les *Salmonelles* peuvent se multiplier de 5°C à 45/47°C avec une croissance nettement retardée par les températures inférieures à 10°C. **(Robinson et al; 2000)**. Sont des bacilles à gram négatif **(Tanouti, 2016)**, d'une durée d'incubation de 6 à 72 heures en général. Elles sont associées généralement à la consommation des viandes crues (volaille, porc), des produits à base d'œufs (pâtisseries), des produits laitiers et des produits préparés (salade de pomme de terre). Parmi les signes cliniques : fièvre, diarrhées, douleurs abdominales, vomissements, maux de tête **(Birembaux, 2017)**.

Les *Salmonella* responsables des fièvres typhoïdes ayant l'homme pour seul réservoir, la contamination se fait par ingestion d'eau ou d'aliments ayant subi une contamination fécale d'origine humaine. Comme toutes les maladies à transmission oro-fécale, ces fièvres surviennent le plus souvent dans des zones où l'hygiène est précaire, et frappent principalement les pays en développement en Asie, en Afrique ou en Amérique Latine. Les données mondiales les plus récentes font état de 17 millions de cas annuels de fièvre typhoïde, et de 600 000 morts (fig. 19) **(Hu and Kopecko, 2003)**.

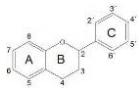


Figure 19 : Genre *Salmonella*, coloration par la méthode de Gram.

D. Klebsiella pneumoniae

Les *K. pneumoniae* présentent les caractères généraux des entérobactéries. Elles ont la particularité d'être immobiles et possèdent une capsule. Les colonies sont visibles dès 24h d'incubation sur des milieux non sélectifs ou sur des milieux sélectifs lactosés à 35- 37°C. Elles sont rondes, bombées, grandes, 3 à 4 mm de diamètre et d'aspect muqueux. L'identification de l'espèce repose également sur des caractères biochimiques particuliers. Elles ont une réaction Vöges-Proskauer (VP) positive, c'est-à-dire qu'elles produisent de l'acétoïne. Elles possèdent une uréase mais pas d'arginine dihydrolase ou d'ornithine décarboxylase et ne produisent pas d'hydrogène sulfuré.

K. pneumoniae est un germe opportuniste surtout responsable d'infections nosocomiales de type urinaires, pulmonaires et de bactériémies. Les infections nosocomiales néonatales à *K. pneumoniae* sont également fréquentes. Elle peut aussi être à l'origine d'infections communautaires, il s'agit majoritairement d'infections broncho-pulmonaires et intra-abdominales (Fig. 20) (Martin, 2018).

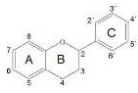


Figure 20 : *Klebsiella pneumoniae*.

❖ **Les bactéries à Gram positif**

A. *Enterococcus*

Les *entérocoques* sont des bactéries Gram positif qui se présentent sous forme de diplocoques ou de coques en chaînettes. Ils sont anaérobies facultatifs, immobiles et dépourvus de capsule. Cette famille englobe une trentaine d'espèces qui ont longtemps été classées dans le genre des streptocoques au vu de leurs similitudes avec les streptocoques du groupe D. Les deux principales espèces importantes en clinique sont *l'Enterococcus faecalis* et *l'Enterococcus faecium*, le premier se retrouvant plus fréquemment que le second (90% vs 10% environ).

Ils font tous deux partie de la flore commensale de nos intestins et se comportent comme des germes opportunistes. Les infections les plus souvent causées par ces germes sont des infections urinaires, des péritonites, des abcès intra-abdominaux, des bactériémies nosocomiales ou des endocardites. La porte d'entrée la plus souvent retrouvée est digestive mais les cathéters peuvent également représenter une source d'infection en milieu médical. Leur nature leur confère un certain nombre de capacités de résistance et de tolérance natives à différentes classes d'antibiotiques, ce qui conditionne la prise en charge thérapeutique (fig. 21) (Stucki et al., 2014).

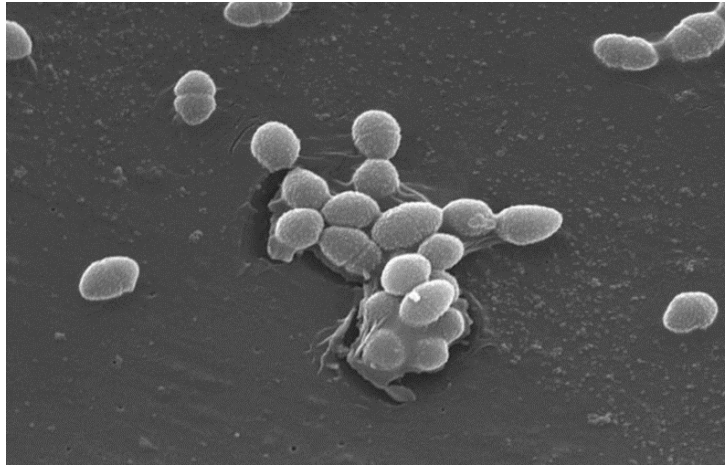
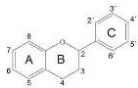


Figure 21: Vue en microscope électronique d'*Entérooccus faecalis* (Berger, 2010).

B. Staphylococcus aureus

Les Staphylocoques sont des coques immobiles, Gram positif et non sporulés, isolés ou groupés en diplocoques ou, le plus souvent, en amas plan de plusieurs éléments (du grec staphylo, grappe de raisin), diamètre moyen 0,8 à 1 μm . En revanche, la majorité des souches isolées dans les infections humaines et animales produisent des polysides capsulaires qui forment des microcapsules non visibles en microscope optique (GAILLARD et al, 1995 ; FEDERIGHI, 2005).

Le *Staphylococcus aureus* est une bactérie à la fois commensale et pathogène opportuniste (ABERA et al ,. ;2010). Cette espèce bactérienne peut coloniser l'humain aussi bien que plusieurs espèces animales comme le porc, le sanglier ainsi que le cerf rouge (ABERA et al ,. ;2010 Smith et al ,.2011 ; . Rasigade, al 2010). Chez l'humain, on peut retrouver *Staphylococcus aureus* au niveau du nez, des aisselles ou encore dans le système gastro-intestinal (fig. 22) (Ekkelenkamp et al , .2006).

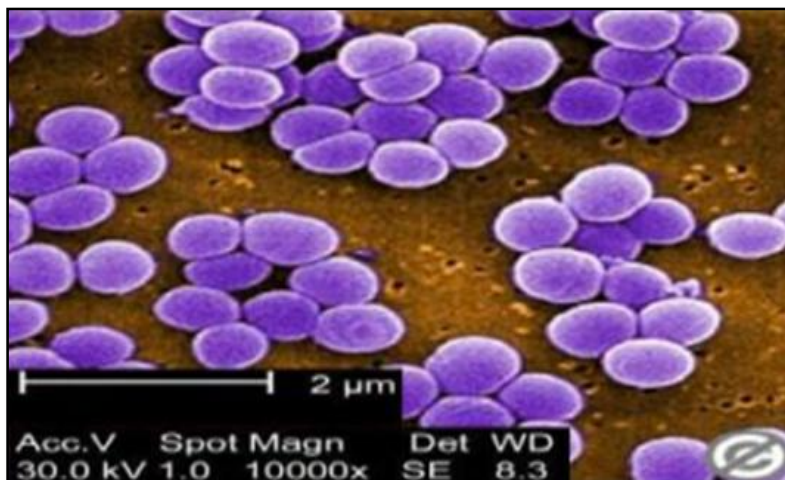
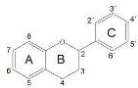


Figure 22 : Aspect morphologique de souche de *Staphylococcus aureus* observé au microscope électronique (LEYRAL et VIERLING, 2007).

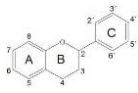
2.1 Test de diffusion (méthode des disques)

L'activité antibactérienne des différents extraits végétaux est évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par Bauer et al. (1966) et reprise par BARRY et al. (1985).

- **Principe de la méthode**

Le principe de cette méthode se résume en un disque de papier imprégné de l'extrait à différentes concentrations, déposé directement sur la gélose, uniformémentensemencée avec le germe à tester. La croissance du germe est inhibée à une distance du disque par rapport à sa sensibilité à l'extrait diffusé. La limite de la zone d'inhibition est détectée à l'œil nu et s'accorde à l'endroit où la croissance bactérienne commence (Massiaen et al.1981). Plus la zone d'inhibition est grande plus la sensibilité de la souche bactérienne testée est grande (Bektas et al., 2003).

L'interprétation de la zone d'inhibition se fait à l'aide d'une règle en fonction des diamètres donnés dans un tableau, ainsi les germes sont classés en « sensibles », « intermédiaires » ou « résistants» (Biondi et al1993). La souche ainsi qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (Bouharb et al., 2015).



2.2 Mode opératoire

2.2.1 Revivification des souches

La revivification des souches est une étape nécessaire avant leur utilisation car leur activité biologique est nulle. Donc, elle a pour but l'obtention d'une culture jeune et pure. Elle consiste à ensemercer en stries la surface de la gélose nutritive préalablement coulée et solidifiée dans les boîtes de Pétri quelques colonies des souches conservées à 4°C (milieu gélose nutritif pour les bactéries). Les boîtes de Pétri renfermant chacune une souche de bactérie sont incubées à 37°C pendant 24h (Joly et Reynaud,2003).

2.2.2 Stérilisation des matériels

Les matériaux de travail ont été stérilisés en premier (les tubes à essai, les disques en papiers Wattman de 6 mm, la gélose nutritive, les eppendorfs, les embouts des micropipettes) dans un autoclave à 121°C pendant 15 min et aussi par les rayons UV de la hôte et le bec benzène.

2.2.3 Préparation de milieu de culture

Le milieu de culture utilisé est le Muller-Hinton qui est utilisé pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries. La gélose est bouillie jusqu'à la dissolution complète dans un bain marie, le milieu de culture est par la suite coulé dans les boîtes de pétri, puis laissé se refroidir (Fig. 23).

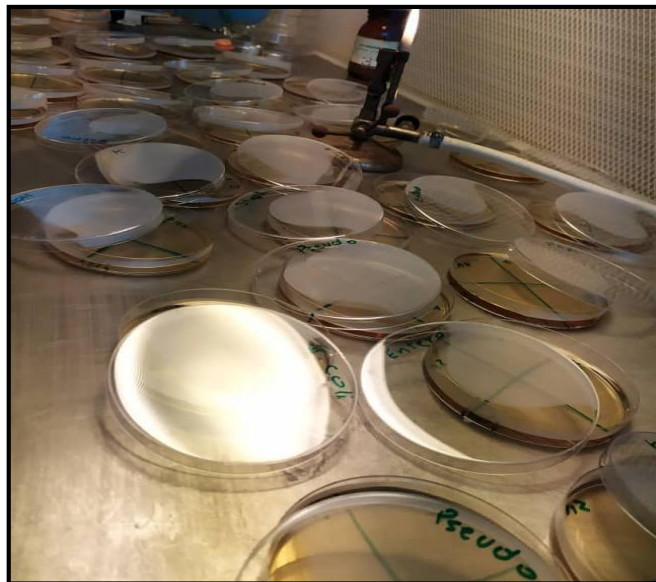
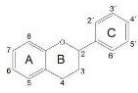


Figure 23 : Préparation des milieux de cultures.



Pour les solvants nous avons utilisé :

- L'eau physiologique stérile : NaCL (9g/L), pour préparer et diluer les suspensions bactériennes.
- DMSO : pour solubiliser l'extrait de (n-butanol, Acétate d'éthyle et dichlorométhane).
- L'eau distillée stérile.

2.2.4 Préparation des dilutions des extraits de plantes

Les extraits des plantes obtenus ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO), ce solvant était choisi d'après des études précédemment faites (aucun effet sur les bactéries), pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives (SM, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$), sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de : 100 mg/ml (Fig. 24)

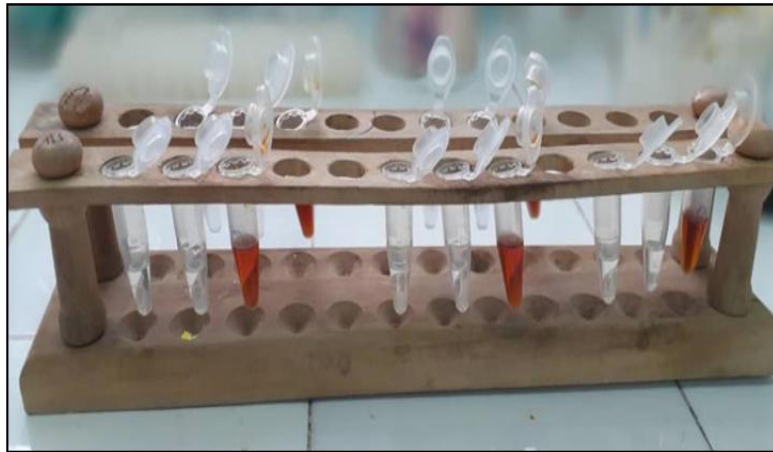
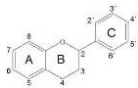


Figure 24 : Préparation des dilutions.

2.2.5 Préparation de la suspension bactérienne

On a racle par une anse de platine, quelques colonies sont bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 10 ml d'eau physiologique, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à (0.5 Mc Farland) ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort (**Daouadji, 2010**).



2.2.6 Ensemencement

Dans un milieu stérile en présence de bec benzène, on a commencé l'ensemencement. Chaque souche bactérienne a cinq extraits d'*Hypochareris lavigaeta* var *hypponensis*.

L'ensemencement doit se faire au moins 15 min après la préparation sur milieu gélosé Muller-Hinton stérile. Ce milieu est fondu, coulé en boîte de pétri à une épaisseur de 0.4mm, après la solidification de la gélose, tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas en stries serrées. Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (Fig. 25). Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (**Mohammedi, 2006**).

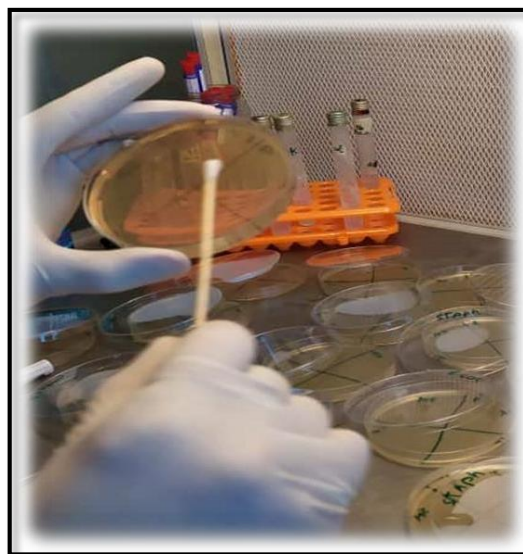


Figure 25: L'ensemencement.

2.2.7 Dépôt des disques

A l'aide d'une pince stérile, les disques sont imprégnés de 10 µl d'extrait à tester et les disques de témoin négatif sont imprégnés des DMSO, Soigneusement prélevés, déposés sur la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne. Les boîtes de pétri sont ensuite fermées et mises au frigo pendant 1h pour la diffusion de l'extrait, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h (Fig.26).

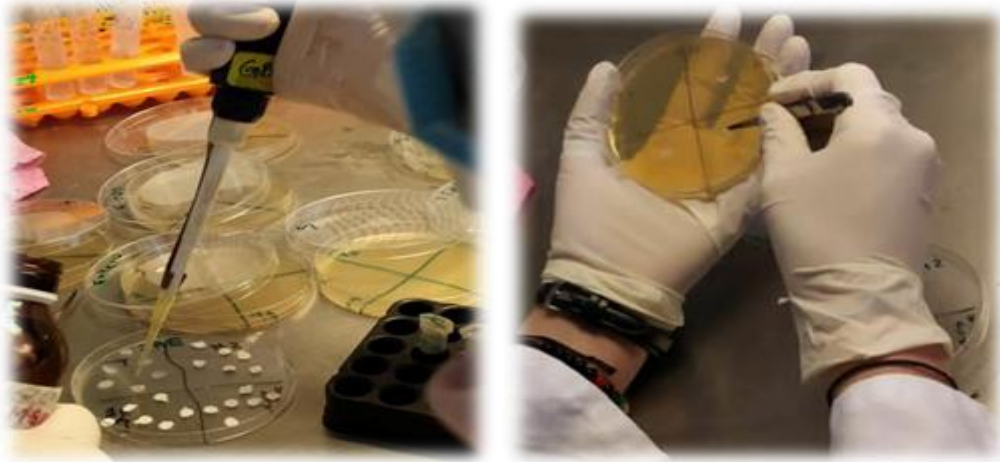
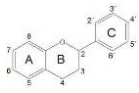


Figure 26 : Dépôt des disques.

2.2.8 La lecture

La lecture des résultats s'est faite 24 heures après l'incubation, par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque (montré par la fig.27) à l'aide d'une règle en (mm). Le diamètre détermine l'efficacité de la matière active.

Après mesure de la zone d'inhibition, les souches sont classées en :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre moins de 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm (**Ponce *et al.*, 2003**).

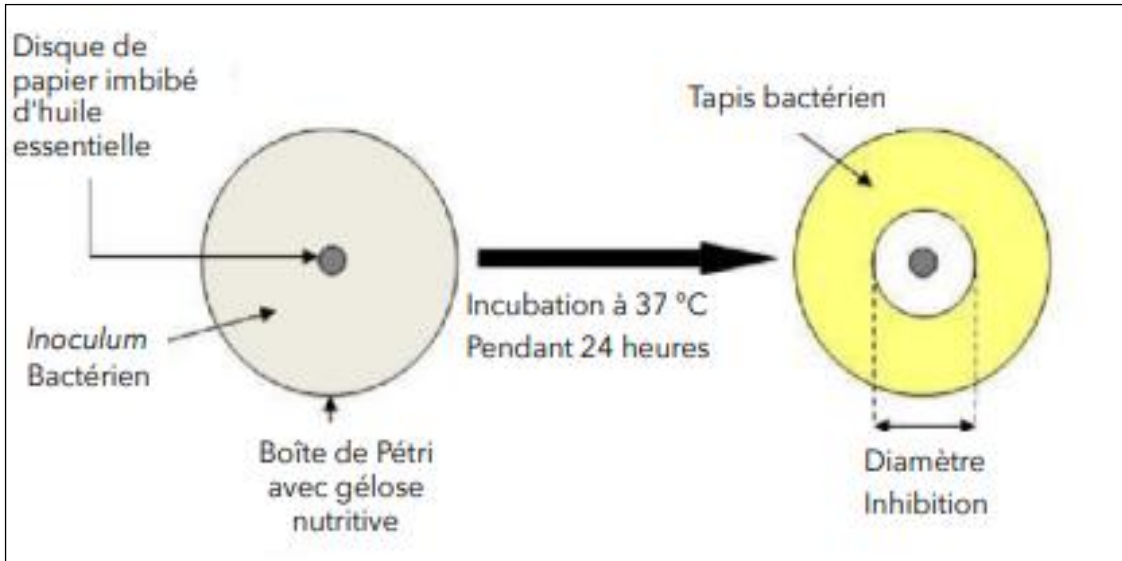
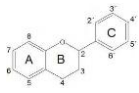
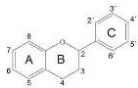


Figure 27 : Principe de la méthode de diffusion sur disques.



Chapitre 02 : Résultats et discussion



1. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'*Hypochaeris laevigata* var *hipponensis*.

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition avec une règle obtenue à partir de différents extraits autour du disque.

Les diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenus sont représentés dans les tableaux suivants :

Tableau 03 : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie aérienne d'*Hypochaeris laevigata* var *hipponensis*.

Dilution / Les bactéries	SM	d 1/2	d 1/4
<i>Enterococcus</i>	10	9	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6	6
<i>Escherichia coli</i>	6	6	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	8	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	6	6
<i>Salmonella</i>	10	9	8

Tableau 04 : Activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie racinaire d'*Hypochaeris laevigata* var *hipponensis*.

Dilution / Les bactéries	SM	d 1/2	d 1/4
<i>Enterococcus</i>	9	8	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11	10,5	9
<i>Escherichia coli</i>	7	6	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	7,5	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	8	7
<i>Salmonella</i>	10	9	7,8

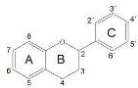


Tableau 05 : Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane de la partie aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.

Dilution / Les bactéries	SM	d 1/2	d 1/4
<i>Enterococcus</i>	8	7,2	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	6,5	6
<i>Escherichia coli</i>	7	6	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,5	8	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	13	8
<i>Salmonella</i>	9	8	7

Tableau 06 : Activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.

Dilution / Les bactéries	SM	d 1/2	d 1/4
<i>Enterococcus</i>	11	10	9,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	7	6,5
<i>Escherichia coli</i>	7,5	7	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	8,5	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	8,5	7
<i>Salmonella</i>	9	8,5	7

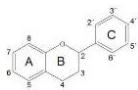


Tableau 07 : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie racinaire d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.

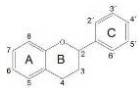
Dilution Les bactéries	SM	d 1/2	d 1/4
<i>Enterococcus</i>	8	7,5	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	7	6,5
<i>Escherichia coli</i>	10	9	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	13,5	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	8,5	7,5
<i>Salmonella</i>	9,5	9	8,5

La sensibilité des bactéries envers les différents extraits est classée selon les diamètres des zones d'inhibition. Aucun effet antibactérien n'a été observé pour certaines souches testées particulièrement contre les bactéries Gram(-) car les diamètres d'inhibition sont inférieurs à 8 mm.

Concernant les extraits concentrés (SM), des zones d'inhibition sont observées indiquant que la majorité des extraits concentrés ont une activité antibactérienne.

Les diamètres d'inhibition obtenus se trouvent entre 6 à 15 mm. Les extraits sont actifs à différents degrés sur l'ensemble des bactéries testées.

- La plus grande zone d'inhibition est celle de l'extrait (dichlorométhane) la partie aérienne avec 15 mm de diamètre et a été observée envers la souche bactérienne de la Gram (+) *Staphylococcus aureus*.
- La plus petite zone d'inhibition est celle de l'extrait (N-butanol) la partie aérienne avec 6 mm de diamètre envers les souches bactériennes (Gram+) *Staphylococcus aureus*, (Gram-) *Klebsiella* et *Escherichia coli*.



- **Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis***

L'activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie aérienne d' *Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* est représentée dans la figure suivante :

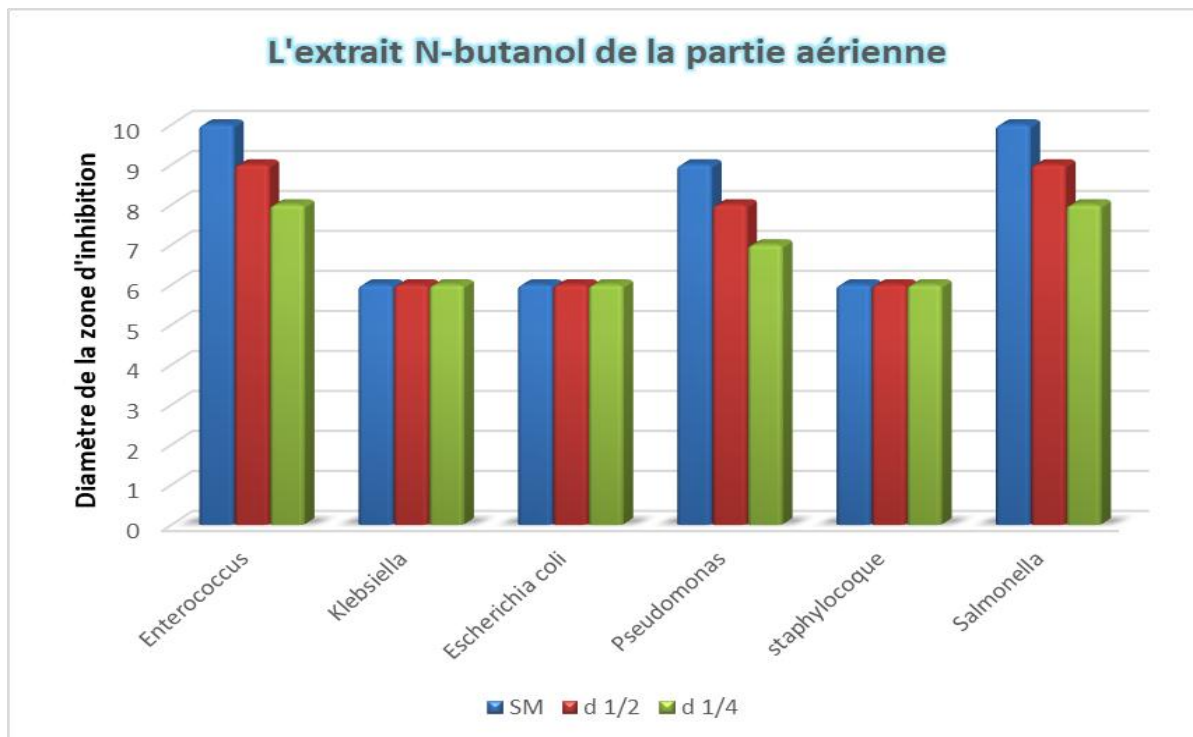
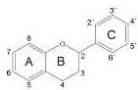


Figure 28 : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.

Au regard des résultats, l'extrait N-butanol de la partie aérienne a montré un faible effet inhibiteur contre les trois souches *Entérocoques*, *Pseudomonas* et *Salmonella* avec des diamètres d'inhibition de (10 mm, 9 mm, 10 m) respectivement concernant la concentration initiale (SM).

Les autres dilutions du même extrait pour les mêmes souches ne possèdent pas une activité antibactérienne, car les diamètres d'inhibition sont inférieurs à 8 mm ; seuil à partir duquel on peut parler d'une activité antibactérienne, sauf la dilution (1/2) qui a montré un faible effet inhibiteur contre les souches *Entérocoques* et *Salmonella* avec un diamètre d'inhibition de (9 mm).



Aucune activité n'a été observée contre les trois bactéries : (Gram+) *Staphylococcus aureus* et (Gram -) *Klebsiella* et *Escherichia coli* avec des diamètres d'inhibition de (6 mm) à toutes les concentrations (SM, 1/2 et 1/4).

- **Activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie racinaire d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.**

L'activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie racinaire d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* est représentée dans la figure suivante :

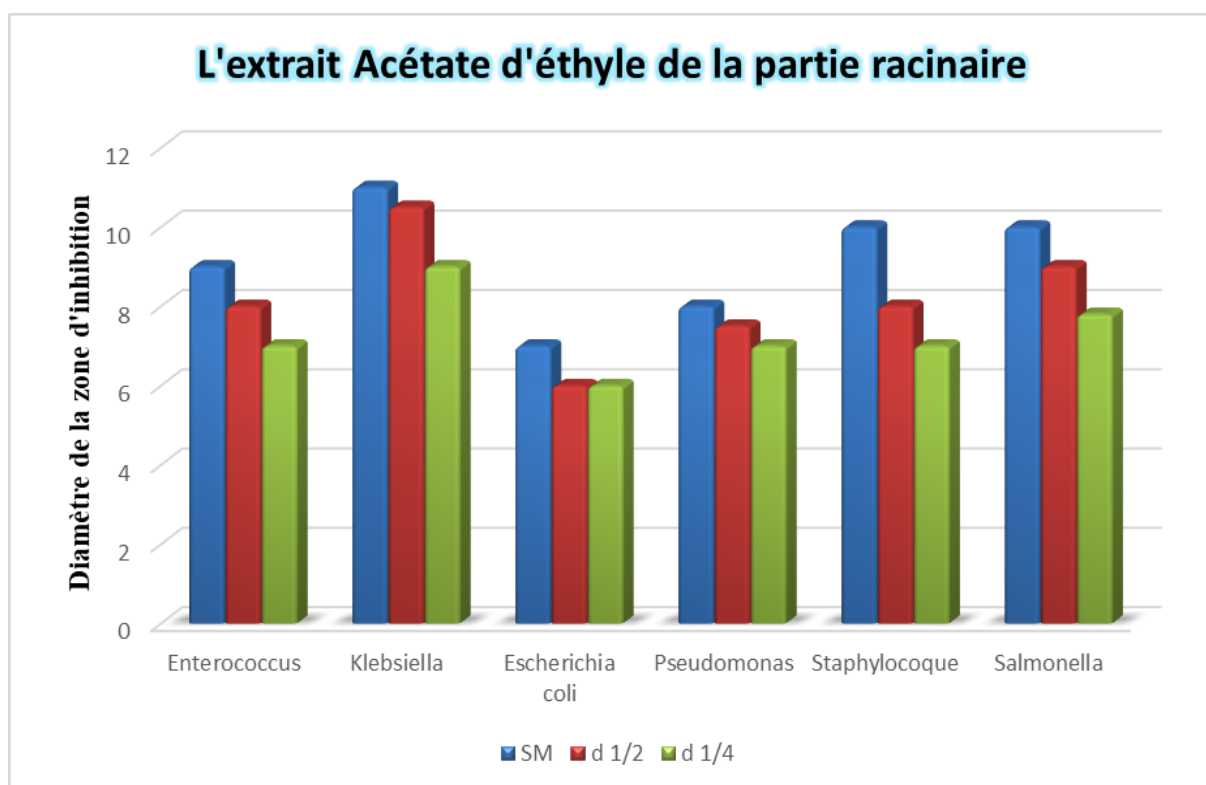
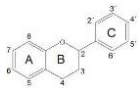


Figure 29 : Activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie racinaire d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.

Au regard des résultats, l'extrait Acétate d'éthyle de la partie racinaire a montré un faible effet inhibiteur pour les extraits concentrés (SM) contre toutes les bactéries sauf les souches *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* car le diamètre d'inhibition est inférieur à 8 mm. Egalement un effet antibactérien est positif et faible avec la dilution (1/2) contre les souches *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella* avec une zone d'inhibition de 10,5 mm et 9 mm respectivement.



Les résultats concernant la dilution (1/4) montrent que cet extrait n'a aucun effet envers les souches testées sauf la souche *Klebsiella pneumoniae* avec un diamètre d'inhibition égal à 9 mm.

- **Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane de la partie aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.**

L'activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane de la partie aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* est représentée dans la figure suivante :

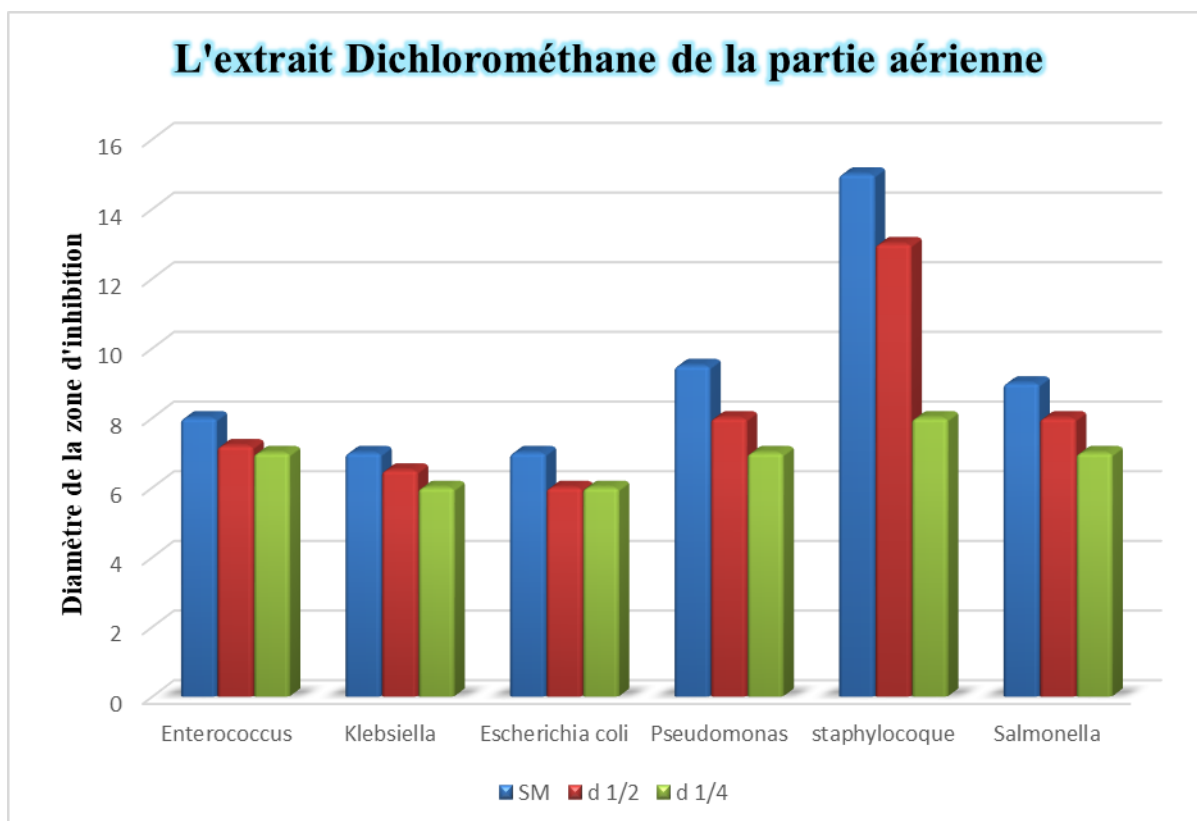
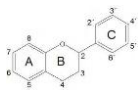


Figure 30 : Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane de la partie aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.

Au regard des résultats, l'extrait Dichlorométhane de la partie aérienne a montré un meilleur effet antibactérien contre la souche *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 15 mm donc elle est très sensible. Et concernant les autres souches bactériennes testées on observe un effet antibactérien faible contre les souches *Salmonella* et *Pseudomonas aeruginosa* (9 mm, 9,5 mm) avec la concentration initiale (SM) de l'extrait.



Les résultats montrent également l'absence d'effet antibactérien dans toutes les dilutions (1/2 et 1/4). Sauf pour la dilution de (1/2), nous remarquons une activité antibactérienne contre la souche *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition qui est égal à 13 mm.

- **Activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.**

L'activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* est représentée dans la figure suivante :

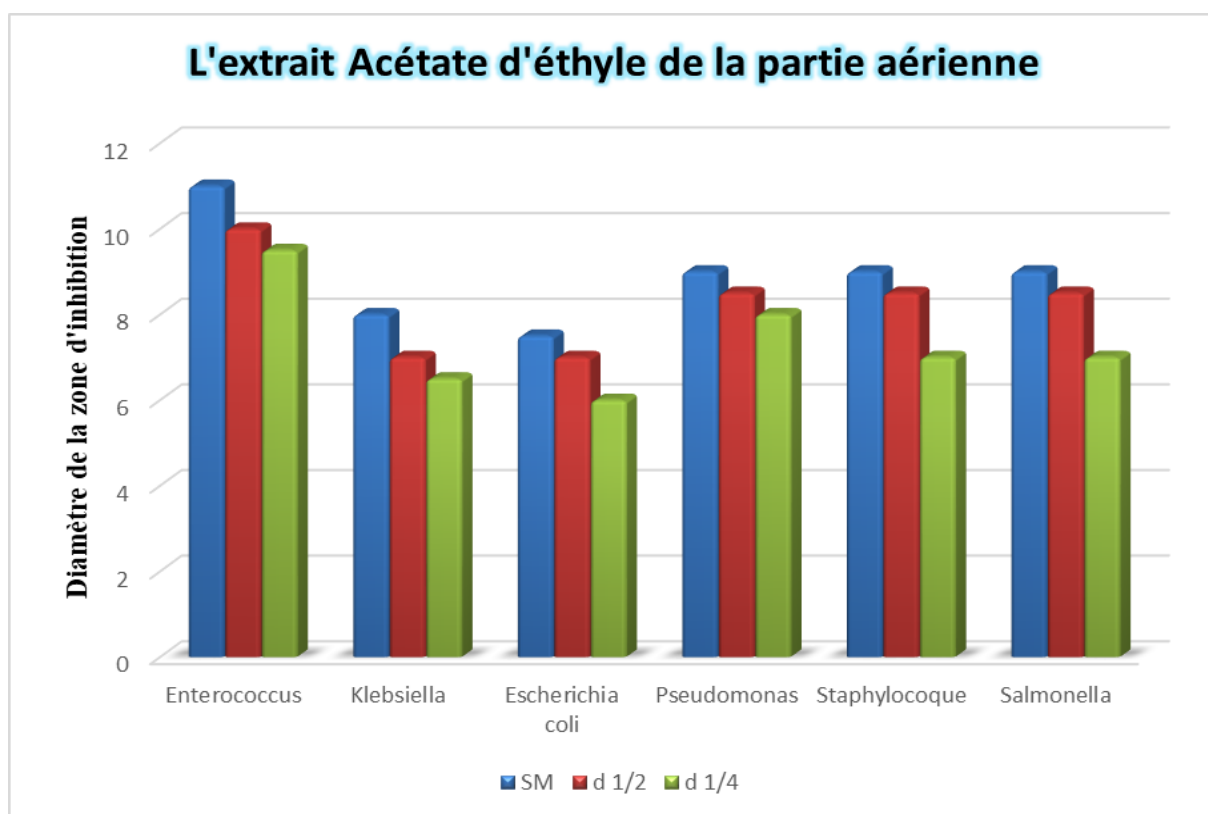
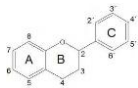


Figure 31 : Activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.

Au regard des résultats, l'extrait Acétate d'éthyle de la partie aérienne a montré un faible effet antibactérien envers toutes les souches bactériennes testées avec la concentration initiale (SM) de l'extrait avec un diamètre d'inhibition entre 9 mm et 11 mm, sauf les souches de Gram (-) *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* qui ne sont pas sensibles donc l'absence de l'activité antibactérienne.



On note également dans le reste des dilutions absence totale ou très faible de l'activité antibactérienne sur toutes les souches.

- **Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie racinaire d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.**

L'activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie racinaire d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* est représentée dans la figure suivante :

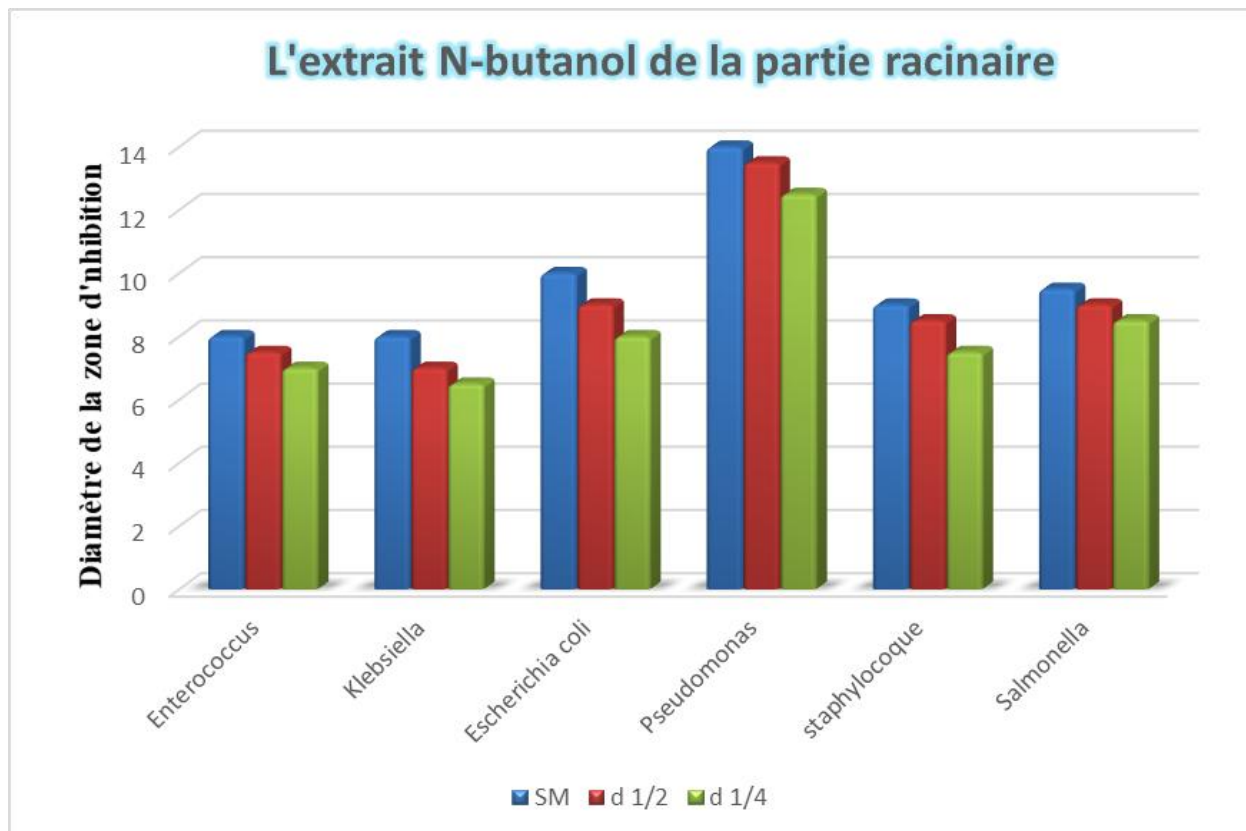
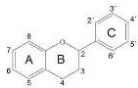


Figure 32 : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol de la partie racinaire d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.

Au regard des résultats, l'extrait N-butanol de la partie racinaire a montré que l'activité antibactérienne contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* est presque forte avec un diamètre de 14 mm. Et concernant les autres bactéries on remarque un faible effet antibactérien envers toutes les souches où les diamètres d'inhibition sont entre 8 mm et 10 mm avec la concentration initiale (SM).



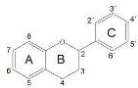
Les autres dilutions du même extrait pour les mêmes souches possèdent aussi une activité antibactérienne très faible, car les diamètres d'inhibition sont entre (8 mm et 9 mm) sauf chez *Pseudomonas aeruginosa* avec 13.5 mm dans d (1/2) et 12.5 mm dans d (1/4).

D'après les résultats obtenus, nous pouvons dire en ce qui concerne la présence de l'activité antibactérienne des extraits de la plante *d'Hypochaeris laevigata* var *hipponensis* que cela est dû à la présence de composants chimiques présents dans ces extraits y compris les alcaloïdes, flavonoïdes, glycosides, glycosides, phénols, résines, saponines, stéroïdes, tanins, terpénoïdes et de triterpénoïdes, ainsi que d'autres composés de nature phénolique que nous pouvons considérer comme un agent antibactérien.

L'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné des extraits bruts étudiés traduit l'action bactériostatique. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait à une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 8 mm (**Marjorie, (1999)**).

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) vis-à-vis des extraits des plantes (**Falleh et al., 2008 ; Hayouni et al., 2007 ; Turkmen et al., 2007 ; Shan et al., 2007 ; Koné et al., 2004**). Ceci peut être attribué à la différence entre les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+). Les bactéries Gram (-), indépendamment de la membrane des cellules, possèdent une couche additionnelle à la membrane externe, qui se compose des phospholipides et des protéines, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules. (**Georgantelis et al., 2007**). L'hypersensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* peut s'expliquer probablement par la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température et les extraits naturels dus à l'absence de la membrane externe (**Balentine et al., 2006**).

Du fait que la principale cible de ces composés naturels est la membrane bactérienne, l'activité antibactérienne des substances naturelles s'explique par la lyse de ces membranes. Les huiles essentielles, flavonoïdes, alcaloïdes voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions de potassium au niveau de la membrane et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort (**Rhayour, 2002**).

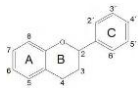


Plus d'une étude a trouvé que les dérivés de flavone sont inhibiteurs. Les propriétés antimicrobiennes de la quercétine (9), l'apigénine-7-O--d-glucuronopyranoside, la quercétine 3-O--d-galactopyranoside et la quercétine 3-O--l-rhamnopyranosyl (16) -d-glucopyranoside ont été signalées. contre les bactéries (*Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Staphylo- coccus aureus*) (Djouossi et al., 2015), à travers cette étude, nous pouvons conclure que la plante étudiée contient des flavonoïdes.

Les différentes classes de polyphénols essentiellement les flavonoïdes et les tanins peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes. Cette toxicité est en fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique (Cowan, 1999) Les phénols peuvent être absorbés à la paroi cellulaire, ce qui conduit à une rupture de la structure et de la fonction de la membrane (Hayrapetyan, et al., 2012). L'effet antimicrobien de ces phénols peut être expliqué par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques (Dhaouadi, et al., 2011) .

En outre, nous remarquons que tous les extraits dilués testés n'ont aucun effet inhibiteur ou un effet faible sur les souches choisies. Nous pouvons expliquer l'inhibition par la nature de solvant d'extraction qui un impact sur la disponibilité des substances bioactives.

Ces résultats pourraient signifier aussi que l'activité antibactérienne des différents extraits testés est principalement liée à des substances bioactives et des conditions d'extraction.



2. Pouvoir antibactérien

Le pouvoir antibactérien des trois extraits (acétate d'éthyle, dichlorométhane, n-butanol) de la partie aérienne d'*Hypochaeris laevigata* var *hipponensis* est représenté dans la figure suivante :

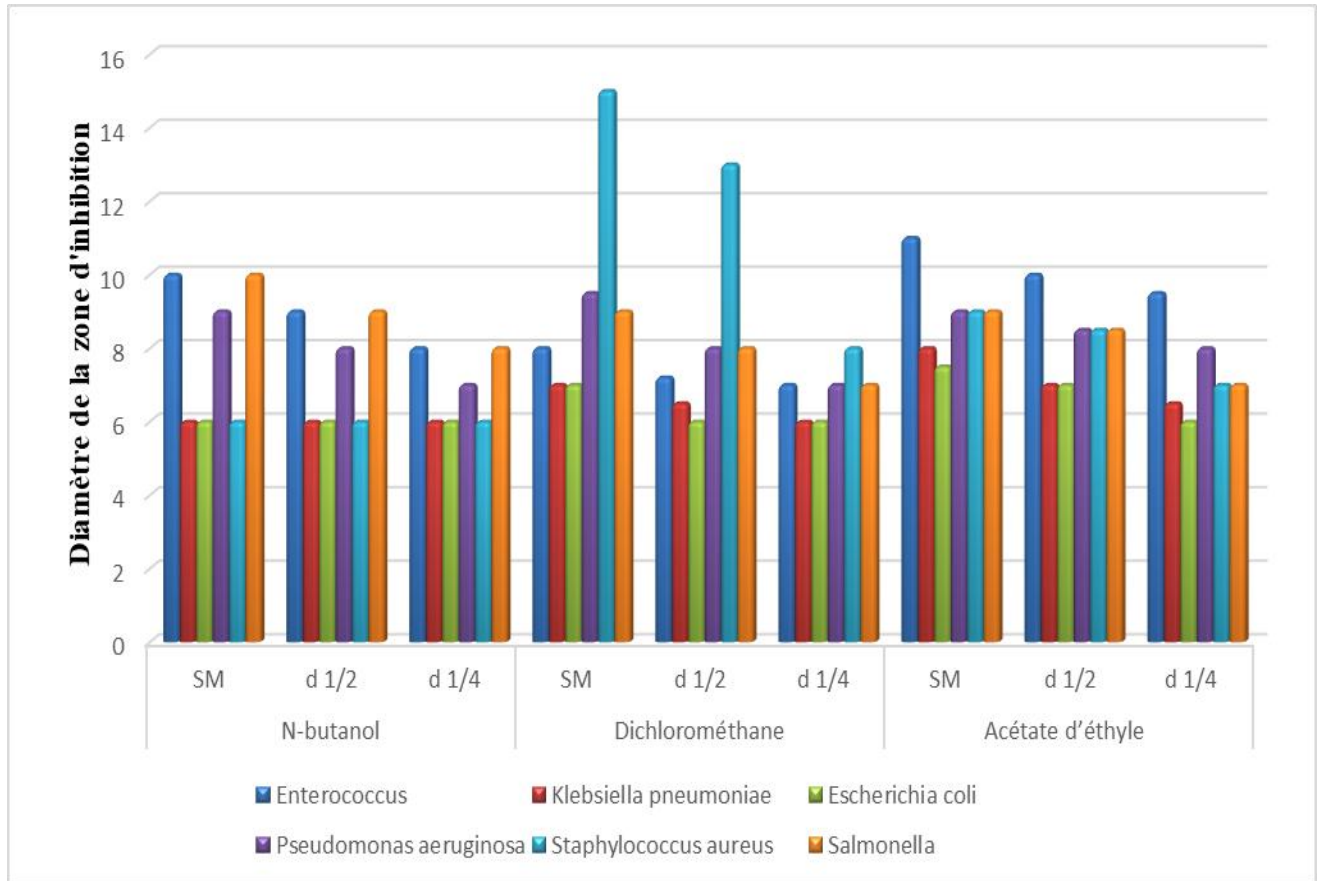
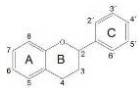


Figure 33 : Diamètres d'inhibition des bactéries testées par l'extrait acétate d'éthyle, dichlorométhane, n- butanol de la partie aérienne d'*Hypochaeris laevigata* var *hipponensis*.



Le pouvoir antibactérien des extraits (acétate d'éthyle, n-butanol) de la partie racinaire d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* est représenté dans la suivante :

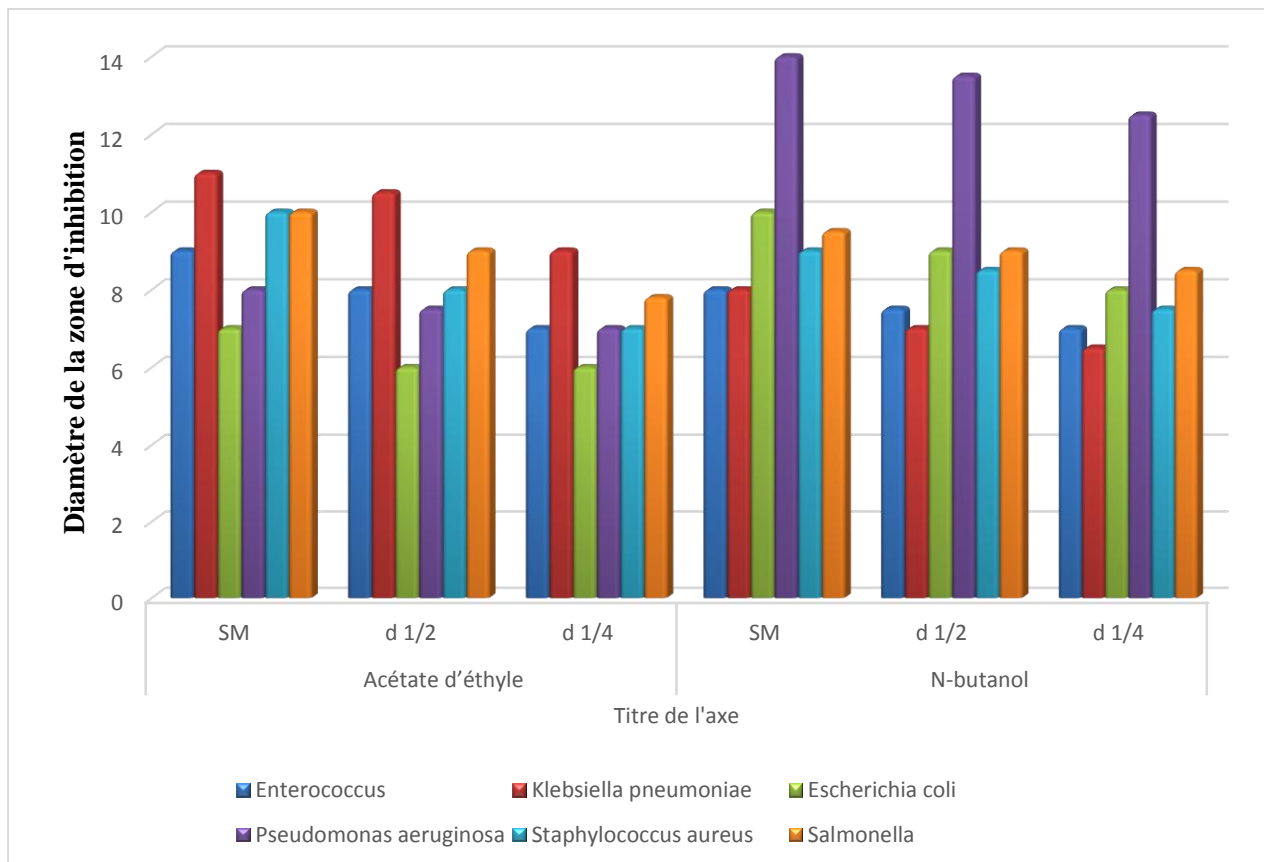
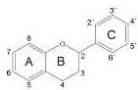


Figure 34 : Diamètres d'inhibition des bactéries testées par l'extrait acétate d'éthyle, N- butanol de la partie racinaire d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.

A partir des résultats exprimés dans les tableaux et les figure (18 et 19), on peut déduire que la plante *Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* a une meilleure capacité antibactérienne pour la concentration (SM) avec l'extrait dichlorométhane tandis que l'extrait n-butanol a une capacité antibactérienne inférieure, d'autre part l'extrait de l'acétate d'éthyle est le plus faible par rapport aux autres. Cette différence peut être due à l'origine de la composition chimique entre les trois solvants qui diffère d'un extrait à un autre et les molécules bioactives qui y sont présentes.

Il en ressort de cette analyse que chaque extrait agit différemment sur les microorganismes c'est-à-dire qu'un extrait peut avoir une action importante sur un germe, ou une action moindre, voire même nulle sur un autre.

le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes est tributaire de leurs compositions chimiques (Ben Sassi et al., 2007 ; Naili et al., 2010).



L'absence d'effet bactériostatique ou bactéricide sur les différentes souches testées pourrait être due à la résistance de celles-ci ou bien à l'insuffisance du volume et de la concentration utilisée. De plus, la méthode d'extraction et les solvants utilisés pour l'extraction pourraient être à l'origine de ces résultats car **Hayouni et al., (2007)** ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antibactérienne des composés phénoliques des plantes.

- **Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol et l'acétate d'éthyle des parties (racinaire et aérienne) d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.**

L'activité antibactérienne de l'extrait N-butanol des parties (racinaire et aérienne) d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* est représentée dans la figure suivante :

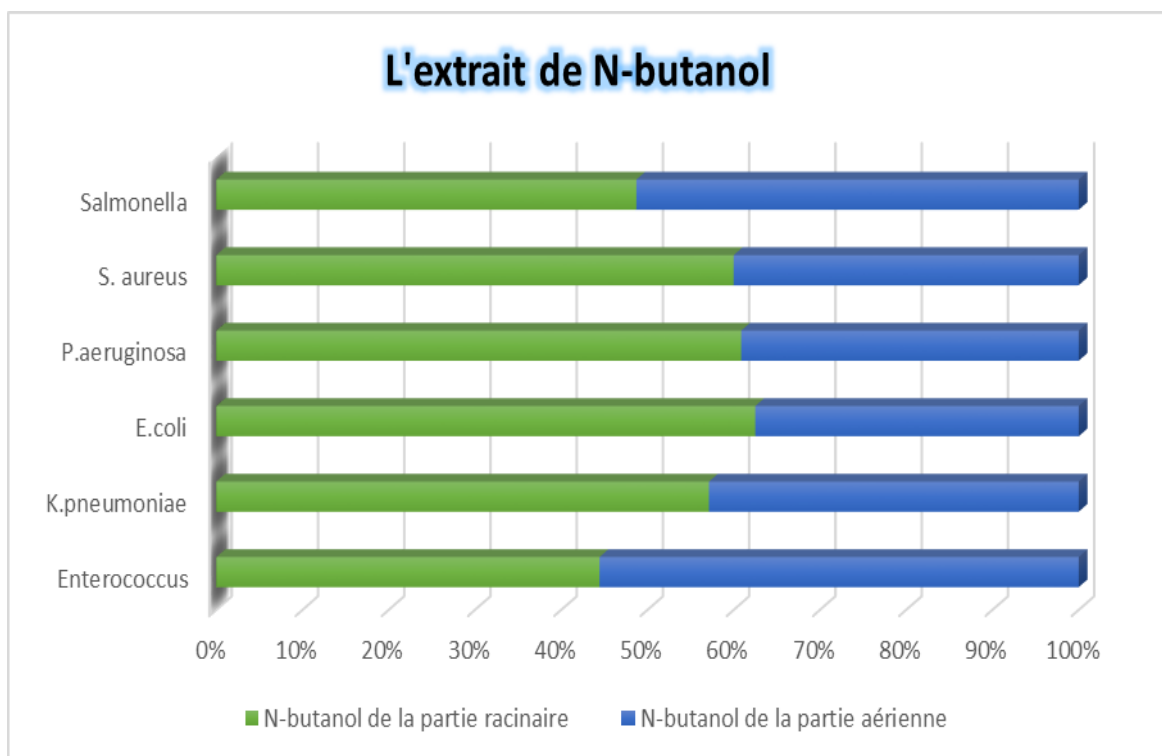
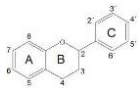


Figure 35 : L'activité antibactérienne de l'extrait N-butanol des parties racinaire et aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.



L'activité antibactérienne de l'acétate d'éthyle des parties racinaire et aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* est représentée dans la figure suivante :

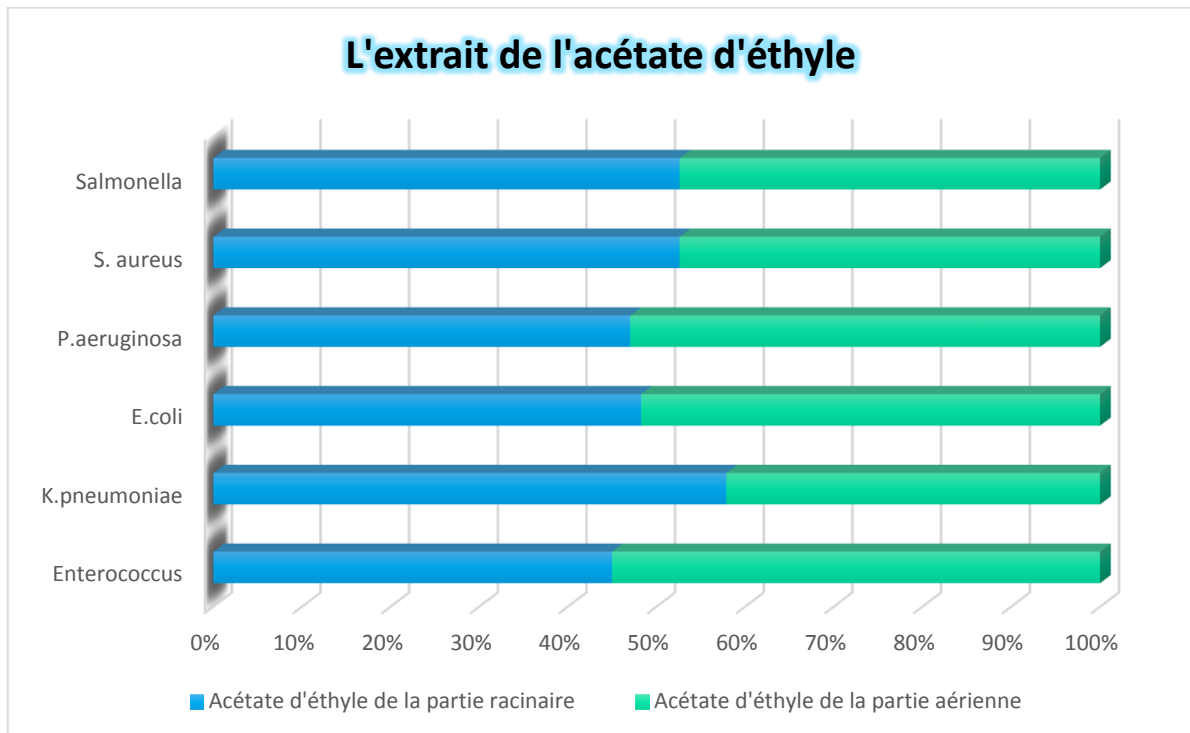
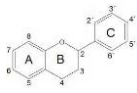


Figure 36 : L'activité antibactérienne de l'acétate d'éthyle des parties racinaire et aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*.

A partir des deux représentations graphiques de l'activité antibactérienne des deux solvants (Acétate d'éthyle et n-butanol) dans la partie racinaire et les parties aériennes de *Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* nous avons remarqué que l'effet antibactérien était plus concentré dans la partie racinaire plus que la partie aérienne, ce qui indique que la partie racinaire est plus riche en composants chimiques à effet antibactérien.



Conclusion et perspectives



Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (tige, feuille, racine, fleurs, etc.) peut être utilisée à des fins médicinales. Elles sont utilisées depuis au moins 7000 ans avant notre ère par l'homme et constituent la base de la phytothérapie. Leur efficacité est due à leurs composés, très nombreux et variés selon les espèces, qui sont autant de principes actifs différents.

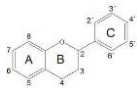
Au terme de ce travail visant à étudier l'activité antibactérienne des cinq extraits préparés par macération de plante médicinale algérienne, appartenant à la famille des *Asteraceae* en l'occurrence *Hypochaeris laevigata* var *hipponensis*, les familles les plus importantes de la flore Algérienne et les plus utilisées en médecine traditionnelle. Il ressort que ces plantes possèdent des vertus pouvant justifier leur utilisation en médecine traditionnelle.

Le travail a commencé par une macération de la plante *d'Hypochaeris laevigata* var *hipponensis* après séparation de la partie aérienne de la partie racinaire pour obtenir deux solutions aqueuses, qui ont ensuite subi des séparations liquide-liquide avec des solvants organiques de polarité croissante pour obtenir trois extraits de la partie aérienne (acétate d'éthyle, dichlorométhane, n-butanol), et deux extraits de la partie racinaire (acétate d'éthyle, n-butanol).

Nous notons également testé ces extraits sur l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion à partir des disques imprégnés. Les résultats obtenus ont montré des zones d'inhibition remarquables contre les six souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus*, *Salmonella*).

On note également que la partie aérienne est plus riche en composés antibiotiques par rapport à la partie racinaire. Les résultats des tests microbiologiques nous ont permis de montrer que les différents extraits des deux parties de la plante possèdent une activité antibactérienne intéressante.

Comme nous l'avons également remarqué à partir des résultats que la fraction dichlorométhane possède la capacité antibactérienne la plus élevée et la meilleure par rapport aux autres extraits (un effet bactériostatique fort sur *Staphylococcus aureus* 15 mm). Cela peut être expliqué essentiellement par la nature du solvant et des composés phénoliques qui y sont présent.



En ce qui concerne le pouvoir antibactérien évalué par la méthode de diffusion de disque des différents extraits (acétate d'éthyle, dichlorométhane, n-butanol) des deux parties de la plante étudiée, nos résultats montrent que la bactérie *Staphylococcus aureus* présente une sensibilité élevée vis-à-vis de l'extrait dichlorométhane de la partie aérienne de *Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* comparativement aux autres bactéries.

Les souches testées ont montré une grande sensibilité aux extraits des différentes parties de la plante et non sensible chez les autres. Nous notons également l'absence d'activité antibactérienne sur certaines bactéries, notamment les bactéries Gram négative, avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 6 à 15 mm, mais ces extraits sont plus efficaces vis-à-vis des bactéries Gram positive.

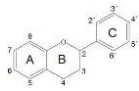
Par le biais de ce travail, nous espérons avoir apporté tant soit peu à la médecine traditionnelle pour parvenir à mettre à la disposition de la population des médicaments à base de plantes médicinales efficaces et accessibles et nous envisageons de passer à des essais cliniques sur l'homme.

Il serait intéressant d'approfondir cette étude par :

- La réalisation d'une étude phytochimique sur les extraits en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques comme l'activité antifongique, l'activité antioxydant, l'activité cicatrisante...etc.
- Identification et caractérisation de la molécule responsable de l'effet par les méthodes d'analyse (RMN, Spectromètre de masse).
- Etude de la toxicité aigüe et chronique, in vivo, sur un modèle animal, afin de pouvoir cerner tout effet indésirable et de mieux identifier les sites d'action des substances actives.

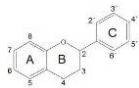
Références bibliographiques





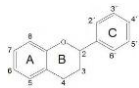
Références bibliographies

- **A**BERA M., DEMIE B., ARAGAW K., REGASSA F., REGASSA A. (2010).
Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitic milk and their drug resistance patterns in Adama town, Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health* Vol 2(3), pp 29-34.
- **Achat, S. (2013)**. Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques (Thèse de doctorat). Université d'Avignon.
- **Afzal, F., & Alvina, G. K. (2014)**. *Oxidative Damage to Plants*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-06923-X> .
- **Avril J.L., Denis F., Dabernat H., Monteil H. (2000)**. *Bacteriologie clinique*. 2^{ème} édition Marketing, paris. Pages 148-280.
- **B**adiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako. 10 p.
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. And Idaomar M.(2008)**. Biological effects Of essential oils. A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
- Balentine, C.W., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Duong, D.Q., Pohlman, F.W. (2006). The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*. 73: 413-421.
- **Barghi, N., Mugnier C., and Siljak-Yakovlev S., 1989**. Karyological studies in some *Hypochaeris* spp. (Compositae) from Sicily. *Plant Syst. Evol.* 168:49–57.
- **Bektas, M., Malak, A. T., Yumer, A. S., Korkmaz, M., Ozkan, A. (2003)**. Turkish University Students Nutritional Habits Regarding Cancer Prevention and Healthy Lifestyles. *Asian Pacific Journal of Preventio.* 11: 1347-1350.
- **BEN SASSI A., HARZALLAH S., AOUNIL M. (2007)**. Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Journal Pharmaco Bio.*, 45 (5), 421–428.
- **Benaissa O., 2011** : Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.

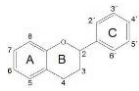


- **Biondi, D., Cianci, P., Geraci, C., Ruberto, G., & Piattelli, M. (1993).** Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour and fragrance journal*, 8(6), 331-337
- **Birembaux Julie. (2017).** Conseils à l'officine: prévention des infections alimentaires chez les populations à risques. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lille 2 de droit et santé. 73 p.
- **Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E. 2004.** New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxycoumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. p50, 120-123.
- **Bouharb H., El Badaoui K., Zair T., El amri J., Chakir S. et Alaoui T. (2014).** Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences* 78: 6685 – 6693.
- **Boumediou, A. et Addoun, S., 2017.** Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen. 67p.
- **Buchanan, B., Gruissem, W & Jones, R. (2000).** *Biochemistry & molecular biology of plants* (1e éd.). Maryland, USA: American society of plant physiologists.
- **Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R., 2000.** *American Society of Plant Physiologists*, chapitre 24, pp 1250-1318.
- **Burnichon, N., Texier A. (2003).** L'antibiogramme : La détermination de la sensibilité aux antibiotiques. *DES bactériologie*.

- **Carbon C. (2000).** L'usage judicieux des antibiotiques: une arme essentielle pour contrôler la résistance bactérienne. *Med Hyg*; 58: 1963-1964
- **Carbonnelle, B. (1988).** *Bactériologie médicale, techniques usuelles*. Paris, 330.
- **Cardona, F., Andres-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F.J. et Queipo-Ortuno, M.I. (2013).** Benefits of polyphenol on gut microbiota and implications in human health. *J. Nutr. Biochem.*, 24:1415–1422.
- **Cerbah M., Souza-Chies T., Jubier M-F., Lejeune B. and Siljak-Yakovlev S., 1998.** Molecular phylogeny of the genus *Hypochaeris* using internal transcribed spacers



- of nuclear rDNA: inference for chromosomal evolution. *Molecular Biology and Evolution*, Volume 15, Issue 3, 1 March 1998, Pages 345–354.
- **Cerbah, M. et al. (1999)** ‘Evolutionary DNA variation in the genus *Hypochaeris*’, *Heredity*, 82(3), pp. 261–266. doi:10.1038/sj.hdy.6884690.
 - **Cerbah, M., Coulaud, J., Brown, S., & Siljak-yakovlev, S. (1999)**. Evolutionary DNA variation in the genus *Hypochaeris*. *Heredity*, 82(3), 261- 266. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6884690>
 - **Chiguer, B. (2014)**. Toxi-infections Alimentaires Collectives : Fléau Mondial à surveiller (Exemple du Maroc 2008-2012). Thèse de Doctorat en Médecine. Faculté de Médecine et de Pharmacie : Université Mohammed V- Souissi, Rabat. 104 p.
 - **Chopra, I., (1998)**. Research and developpementof antibacterial agents. *Current opinion in Microbiology*, 1, 495-501.
 - **CISSE H.A., (2006)**.Evaluation du rôle de *Staphylococcus aureus* dans les infections bactériennes invasives à partir des liquides biologiques examinés au laboratoire de l’hôpital Gabriel Touré, , Thèse Pharm, No 06-M-84, Bamako (Mali).
 - **Collins., Lync. (1976)**. *Microbiological methods*.4th édition, 234-247.
 - **Cowan N. M., 1999**. Plant products as anti-microbial agents. *Clinical microbiology Reviews*. Vol. 12(4): 564-582.
 - **Cushnie, T.P.T. et Lamb, A.J. (2005)**.Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. *J. Ethnopharmacol.* 101(1-3):243-248.
 - **Daglia, M., 2012**.Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 23(2): 174- 81.
 - **Danielle (2011)**. CLAVE, FICHE TECHNIQUE: *Pseudomonas aeruginosa*.
 - **Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L., 2003**. Natural product: their chemistry and biological significance. *Journal of the American Oil Chemistry Society*. 80:65-70.
 - **Dibong, S. D., Mpondo, M. E., Nigoye, A., Kwin, M. F. &Betti, J. L. 2011**.Ethnobotaniqueetphytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. [Ethnobotany and phytomedicine of medicinal plants sold in Douala markets] — *Journal of Applied Biosciences* 37: 2496 – 2507. ISSN 1997– 5902. Published online at www.biosciences.elewa.org.

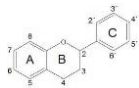


- **Djouossi, M.G., Tamokou, J.D., Ngnokam, D., Kuate, J.R., Tapondjou, L.A., Harakat, D., (2015).** Les flavonoïdes antimicro- biens et antioxydants des feuilles d'*Oncoba spinosa* Forssk. (Salicaceae). BMC Comple- ment. Altern. Med. 15, 134.
- **Dorman, H. J. D. (2000).** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatileoil. Journal of Applied Microbiology. 88-308-316.
- **Dorman, H. J. D. (2000).** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatileoil. Journal of Applied Microbiology. 88-308-316.

- **E**kkelenkamp, M.B., et al., (2006). Endocarditis due to meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* originating from pigs. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde* , 150(44): p. 2442-7.
- **Eumkeb, G. et Chukrathok, S. (2013).** Synergistic activity and mechanism of action of ceftazidime and apigenin combination against ceftazidimeresistant *Enterobacter cloacae*. *Phytomedicine* , 20 (3-4): 262-269.
- **Eyquem, A., J. Alouf, and L. (2000).** Montagnier, *Traité de microbiologie clinique: deuxièmes mises à jour et compléments.*: Piccin.
- **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdely, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*. 331: 372-379.

- **F**ang, X., Yang, C.-Q., Wei, Y.-K., Ma, Q.-X., Yang, L., Chen, X.-Y., 2011. Genomics grand for diversified plant secondary metabolites. *Plant Div Res* 33, 53–64.
- **Flandrois, J.C., Courco, L., Lemeland, J.F., Ramuc, M., Sirot, J. et Souny, C.J. (1997).** *Bacteriologie médicale*. Presses Universitaire de Lyon. ISBN 2 7297 0567 8.
- **Flandrois, J.C., Courco, L., Lemeland, J.F., Ramuc, M., Sirot, J. et Souny, C.J. (1997).** *Bacteriologie médicale*. Presses Universitaire de Lyon. ISBN 2 7297 0567 8.

- **G**.A.F. Hhendry and J.D. Houghton, Glasgow, UK: blackie Academic and Professional, pp. 244-309.
- **Gaussen H, Leroy F, and Ozenda P. 1982.** *Précis de botanique (Végétaux supérieurs)*. 2 Ed Masson, Paris, 580p.

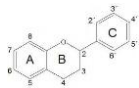


- **Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., Georgakis, S A. (2007).** Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*. 76: 172-181.
- **Ghosh, D. etKonishi, T. (2007).**Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16(2):200-208

- **H****addouche F et Benmansour A (2008).** Article de synthèse: Huiles essentielles et activités biologiques, Application à deux plantes aromatiques. *Journal les technologies de laboratoire N°8*.
- **Han, X., Shen, T & Lou, H. (2007).** Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(9), 950-988.
- **Haslam, E., 1994.** Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.*, 11, pp 41-66.
- **HAYOUNI E., ABEDRABBA M., BOUIX., HAMDI M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian.
- **Hermann,T. (2005).** Drugs targeting the ribosome. *Corrent opinion in Microbiology*. 15, 355-366.
- **Hoffman, L., 2003.** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Strasbourg. 245p.
- **Hostettmann, K., Marston, A., 2005.** Saponins. *Chemistry and pharmacology of natural products*. Cambridge University Press, Cambridge, isbn-10: 0521020174.
- **Hu, L., Kopecko, D., 2003.** typhoid salmonella., Bier J., *International Handbook of Foodborne pathogens*. Edition. Milotis N, New York, 151-165 pp.

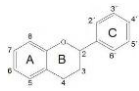
- **I****srin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin. Ed : Larousse/ VUEF, 336 p.

- **J****ackman and Smith. (1996).**Anthocyanins and betalains, in *Natural food*

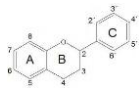


colorants.2nd ed., eds.

- **K**ehrenberg, C., et al., (2009). Methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* strains of clonal lineages ST398 and ST9 from swine carry the multidrug resistance gene *cf*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 53(2): p. 779- 81.
- **Khalilzadeh P. Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa* 2009 : évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing [Thèse]. Toulouse : Université Paul Sabatier (Toulouse III)**
- **Koné, W.M., Kamanzi Atindehou, K., Terreaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D., Dosso, M. (2004).** Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol*. 93: 43-49.
- **L**ahsissene, H., Kahouadji, A., Tijane, M. et Hseini, S., 2009. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Revue de botanique Lejeunia*, série n°186.
- **Lasztity, R., Hidvegi, M., Bata, A., 1998.**Saponins in food. *Food Rev. Int.* 14, 371–390.
- **Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995).** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.
- **Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995).** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.
- **Lobstein, A., 2010.** Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, pp 3-25.
- **Longo, L., Vasapollo, G. et Rescio, L. (2005):** Identification of anthocyanins in *Rhamnus alaternus* L. berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1723.
- **M**acheix, J.J., Fleuriet, A & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Lausanne, Suisse. Presses polytechniques et universitaires romandes.
- **Malecky M., 2005 :** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, AgroParisTech. p 9, 13-19, 20, 27.



- **Marjorie, M. C. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* 12
- **Marjorie, M. C. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* 12 (4):564-582
- **Martin RM, Bachman MA.** Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 22 janv 2018 [cité 13 janv 2021];8. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5786545/>
- **Massiaen, C.M., Cassini, R., 1981.** Taxonomy of *Fusarium*. In "Fusarium; Disease, Biology and Taxonomy". Pennsylvania State University Park, 427-445.
- **Mevius, D.J., Rutter, J.M, Hart, C.A., Imberechts, H., Kempf, G., Lafont, J.P., Luthman, J., Moreno, M.A, Pantosti, A., Pohl, P., Willadsen, C.M., (1999).** Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products, Editions Le point vétérinaire. p 1-57.
- **Midoun, T., 2011.** Extraction Des Composés Phenoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltamétrie Cyclique. Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master, Spécialité : chimie appliquée. Université Kasdi Merbah Ouargla. 53p
- **MOHAMMEDI M. (2013)** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques
- **Moreau B., 2003.** Maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.
- **Mráz P., Gaudeul M., Rioux P., Gielly L., Choler P. and Taberlet P. 2007.** Genetic structure of *Hypochaeris uniflora* (Asteraceae) suggests vicariance in the Carpathians and rapid post-glacial colonization of the Alps from an eastern Alpine refugium. *Journal of Biogeography*, (2007) 34, 2100-2114.
- **N. Cabrolier, J.L., X. Bertrand, (2014).** Épidémiologie et facteurs de risques des infections liées à *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal des Anti-infectieux*, : p. 8-12.
- **NAILI M.B., ALGHAZZER O., SALEH N., ALNAJJAR A. (2010).** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotu* (Rhamnaceae). *Arab. Journal Chem* [en ligne], 3, 79–84. (Consulté le 10 Mars 2017).



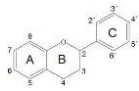
- **Nilius, A.M., Et Ma, Z., (2002).** Ketolides: the future of microlides? *Current Opinion in pharmacology.* 2, 1-8.

- **O**leszek, W., Stochmal, A., 2002. Triterpenesaponins and flavonoids in the seeds of *Trifolium* species. *Phytochemistry* 61, 165–170.
 - **Ophélie Zeyons. (2008).** Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI - Pierre et Marie Curie Ecole Doctorale Physique et Chimie des Matériaux, 61 p.
 - **Oussaid, S., Chibane, M., Madani, K., Amrouche, T., Achat, S., Dahmoune, F., Houali, K., Rendueles, M. et Diaz, M. (2017).** Optimization of extraction of phenolic compounds from *Scirpus holoschoenus* using a simplex centroid design for antioxidant and antibacterial applications. *LWT Food Science and Technology.* 86:635-642.
 - **Oxoby, M., (2002)** Etudes sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucyclinones, Thèse de docteur en chimie organique de l'université Bordeaux I, école doctorale des sciences chimiques. p 3-12.
- plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie., 84.

- **P**once, A. G., FRITZ, R., DELVALLE, C. & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial Activity Of Essential Oils On The Native Microflora Of Organic Swiss Chard.

- **Q**uézel P. & Santa S., 1962. Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. 2 Tomes, Editions CNRS, Paris, 1170.
- **Quyrou, A., 2003.** Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales. Exemple d'utilisation pratique de cette base. Thèse de Doctorat. Université Ibn Tofail Kénitra- Maroc. 110p.

- **R**amanathan, H. (2010). *Food Poisoning Threat to Humans.* Marsland Press. New York, USA. 66 p.
- **Rasigade, J.P., et al., (2010).** Lethal necrotizing pneumonia caused by an ST398



Staphylococcus aureus strain. *Emerging Infectious Diseases*. 16(8): p. 1330.

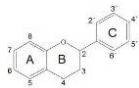
- **Robinson R. K., Batt C. A., Patel P. D.(2000)**. *Encyclopedia of Food Microbiology*.

- **S****EBAI M. et BOUDALI M., 2012** - La Phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel d'infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical, Alger, p 9.

- **Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D., Corke, H. (2007)**. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J Food Microbiology*. 117: 112- 119.
- **Shoaib, M., Shah, S. W. A., Ali, N., Shah, I., Ayaz, M., Tahir, M. N., Akhtar, S., & Ayub, M. T. (2017)**. Synthesis, antinociceptive activity and structure activity relationship of flavone derivatives. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 30(5).
- **Smith, T.C. and N. (2011)**. Pearson, The emergence of *Staphylococcus aureus* ST398. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*. 11(4): p. 327-39.
- **Souilah, N. et al. (2020)** ‘Composés phénoliques d’une espèce endémique algérienne d’*Hypochaeris laevigata* var. *hipponensis* et recherche d’activités antioxydantes’, p. 17.
- **Stebbins G. L., 1971**. Chromosomal changes, genetic recombination and speciation. Pp. 107–111 in E. ARNOLD, ed. *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward Arnold, London.
- **Stucki, K., Harbarth, S., & Nendaz, M. (2014)**. Infections à entérocoques : Du plus simple au plus complexe.... *Revue Médicale Suisse*, 5.

- **T****anouti, A. (2016)**. Microorganismes Pathogènes Portés Par les Aliments : classification, épidémiologie et moyens de prévention. Thèse pour l’obtention du Doctorat en Pharmacie. Université MOHAMMED V-RABAT, Faculté de Médecine et de Pharmacie. 85p.

- **Traoré, Y., Ouattara, K., Yéo, D., Doumbia, I., Coulibaly, A. (2012)**. Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d’*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae). *Journal of Applied Biosciences* 58 : 4234– 4242.
- **Tremetsberger K., Weiss-Schneeweiss H., Stuessy T.-F., Samuel R., Kadlec G., Ortiz M.-A. and Talavera S., 2005**. Nuclear ribosomal DNA and karyotypes indicate a NW African origin of South American *Hypochaeris* (Asteraceae, Cichorieae).



MolecularPhylogenetics and Evolution. Volume 35, Issue 1, April 2005, Pages 102-116.

- **Tsao, R. (2010).** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.
- **Turkmen, N., Velioglu, Y. S, Sari, F., Polat, G. (2007).** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*. 12:484-496.
- **Tyler, V.E., Brady, L.R., Robbers, J.E. (1881).** *Pharmacognosy*. Lea & Febiger, Philadelphia, 520 p..

- **V**andepitte, J., Engbaek, E., Plot, P., Heuk, CC. (1994). *Bactériologie clinique : techniques de base pour le laboratoire O.M.S. Genève*, 62-64.
- **Vermerris, W & Nicholson, R. (2006).** *Phenolic Compound Biochemistry*. New York, USA: Springer.

- **W**eiss-Schneeweiss H., Tremetsberger K., Schneeweiss G.-M., Parker J.-S. andStuessy T.-F., 2008. Karyotype Diversification and Evolution in Diploid and Polyploid South American Hypochaeris (Asteraceae) Inferred from rDNA Localization and Genetic Fingerprint Data. *Annals of Botany*, Volume 101, Issue 7, 1 May 2008, Pages 909–918.
- **Weng, C.-J., & Yen, G.-C. (2012).** Flavonoids, a ubiquitous dietary phenolic subclass, exert extensive in vitro anti-invasive and in vivo anti-metastatic activities. *Cancer and Metastasis Reviews*, 31(1 2), 323–351.

- **Z**eba, B., (2005). Overview of β -lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African journal of biotechnology*, 4 (13), 1559-1562.

Abstract

Hypochaeris laevigata var *hipponensis* is a plant belonging to the Acteracea family, their richness in secondary metabolites led us to proceed to their extraction from the plant after separating the aerial part from the root part by methanol; and then the methanolic extract is fractionated using solvents with increasing polarity. Based on these data we are interested in the biological study and evaluation of the biological activity of this plant. We studied the antibacterial activity on six bacterial strains (*Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli*, *Enterococcus*, *Salmonella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*).

This activity is carried out by the diffusion method from the disks impregnated with different concentrations of the extract. The results show that the dichloromethane extract of the aerial part of *Hypochaeris laevigata* var *hipponensis* is the most active on the tested strains with a maximum inhibition diameter of 15 mm for the initial concentration (SM) towards *Staphylococcus aureus*. While the n-butanol extract of the root part of the plant has the best antibacterial power against *P. aeruginosa* with a diameter of 14 mm.

The results also show that these extracts are more effective against Gram positive bacteria than Gram negative bacteria. It is also noted that the aerial part is richer in antibiotic compounds than the root part.

الملخص

Hypochoeris laevigata var *hipponensis* هي نبتة تنتمي الى عائلة *Acteracea* وقد أدى ثراؤها بمنتجات الأيض الثانوية الى المضي لاستخلاصها من النبتة مع فصل كل جزء لوحده بواسطة الميثانول ثم يتم تجزئة المستخلص الميثانولي باستخدام مذيبات ذات قطبية متزايدة. بناء على هذه البيانات نحن مهتمون بالدراسة البيولوجية وتقييم النشاط البيولوجي لهذه النبتة. درسنا النشاط المضاد للبكتيريا على ستة سلالات بكتيرية ، *Staphylococcus aureus* ، *Esherichia coli* ، *Enterococcus* ، *Salmonella* ، *Klebsiella pneumoniae* ، *Pseudomenas aeruginosa* يتم تنفيذ هذا النشاط بطريقة الانتشار من اقراص مشربة بتركيزات مختلفة من المستخلص. أظهرت النتائج أن مستخلص *Dichlorométhane* هو الأكثر نشاطا على السلالات البكتيرية التي تم اختبارها مع أقصى قطر تثبيط يبلغ 15 ملم للتركيز الأولي ضد *Staphylococcus aureus* بينما يعتبر مستخلص *N-butanol* للجزء العلوي للنبتة فيه أكبر قوة مضادة للبكتيريا ضد *Pseudomenas aeruginosa* بقطر 14 ملم. أظهرت النتائج أيضا أن هذه المستخلصات أكثر فعالية ضد البكتيريا موجبة الجرام من البكتيريا سالبة الجرام. اضافة الى أن الجزء الهوائي غني أكثر بمركبات المضادات الحيوية مقارنة بالجزء الجذري.

Résumé

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BELLOUFI Echaima
GAMRA Houria

Appréciation du pouvoir antibactérien de l'espèce *Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* de la famille des astéracées

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Biothérapie

Hypochoeris laevigata var *hipponensis* est une plante appartenant à la famille des *Acteracea*, leur richesse en métabolites secondaires nous a conduit à procéder à leur extraction à partir de la plante après avoir séparé la partie aérienne de la partie racinaire par le méthanol ; puis l'extrait méthanolique est fractionné en utilisant des solvants à polarité croissante. Partant de ces données nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antibactérienne de cette plante. Nous avons étudié l'activité antibactérienne sur six souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli*, *Enterococcus*, *Salmonella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomenas aeruginosa*).

Cette activité est réalisée par la méthode de diffusion à partir des disques imprégnés avec différentes concentrations de l'extrait. Les résultats montrent que l'extrait Dichlorométhane de la partie aérienne d'*Hypochoeris laevigata* var *hipponensis* est le plus actif sur les souches testées avec un diamètre maximal d'inhibition de 15 mm pour la concentration initiale (SM) vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Alors que l'extrait n-butanol de la partie racinaire de la plante a le meilleur pouvoir antibactérien contre *P. aeruginosa* avec un diamètre de 14 mm.

Les résultats montrent aussi que ces extraits sont plus efficaces vis-à-vis des bactéries Gram positive que les bactéries Gram négative. On note également que la partie aérienne est plus riche en composés antibiotiques par rapport à la partie racinaire.

Mots-clefs : *Hypochoeris laevigata* var *hipponensis*, Métabolites secondaires, Activité antibactérienne.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétales (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : BELLIL Inès (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : KHELILI Kaoutar (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : BENHAMDI Asma (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).